



T.C.
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

**BİTKİ UÇUCU YAĞ VE BİLEŞENLERİNİN DOMATES BAKTERİYEL
HASTALIK ETMENLERİ ÜZERİNE OLAN ANTİBAKTERİYEL
POTANSİYELLERİNİN *in vitro* KOŞULLARDA ARAŞTIRILMASI**

MÜGE ERİŞ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ANTAKYA

ARALIK-2006

Mustafa Kemal Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne

Yrd.Doç.Dr. Soner SOYLU danışmanlığında, Müge ERİŞ tarafından hazırlanan bu çalışma 01/12/2006 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından, Bitki Koruma Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan	: Yrd.Doç.Dr. Soner SOYLU	İmza:.....
Üye	: Doç.Dr. Yeşim AYSAN	İmza:.....
Üye	: Doç.Dr. Şener KURT	İmza:.....

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

Kod No:

İmza

01/12/2006

Prof.Dr. Cemal TURAN
Enstitü Müdür V.

Bu çalışma MKÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonunca Desteklenmiştir.

Proje No: 05-M-0203

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelgelerin, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	I
ABSTRACT	II
ÖNSÖZ	III
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	IV
ÇİZELGELER DİZİNİ	V
ŞEKİLLER DİZİNİ	VI
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	9
2.1. Bitki Uçucu Yağların Fitopatojen Bakteriyel Hastalık Etmenlerine Karşı Antibakteriyel Etkinlikleri Üzerine Yapılan Çalışmalar.....	9
2.2. Bitki Uçucu Yağların Gıda ve İnsan Patojeni Bakteriyel Hastalık Etmenlerine Karşı Antibakteriyel Etkinlikleri Üzerine Yapılan Çalışmalar	13
3. MATERYAL VE YÖNTEM	19
3.1. Materyal	19
3.1.1. Bitki Materyali	19
3.1.2. Çalışmalarda Kullanılan Besi Yerleri.....	20
3.2. Yöntem.....	21
3.2.1. Bakteriyel Etmenlerinin İzolasyonu ve Muhafazası.....	21
3.2.2. Bitki Uçucu Yağların Elde Edilmesi.....	22
3.2.3 Uçucu Yağların Kimyasal Bileşenlerin Belirlenmesi.....	23
3.2.4 Bitki Uçucu Yağ ve Önemli Bileşenlerinin Antibakteriyel Etkinliklerinin Belirlenmesi.....	24
3.2.4.1. Bitki Uçucu Yağların Antibakteriyel Etkinliklerinin Belirlenmesi..	24
3.2.4.1.1. Agar Disk Difüzyon Yöntemi.....	24
3.2.4.1.2. Mikro Seyreltme Yöntemi.....	26
3.2.4.2. Bitki Uçucu Yağlarının Ana Bileşenlerinin Antibakteriyel Etkinliklerinin Belirlenmesi.....	28
3.2.5. Deneme Deseni ve İstatistiksel Analizler.....	28
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	29
4.1. Bitki Uçucu Yağlar ve Genel Özellikleri.....	29
4.2. Uçucu Yağların Kimyasal Bileşenleri.....	29

4.3. Bitki Uçucu Yağ ve Önemli Bileşenlerinin Antibakteriyel Etkinlikleri.....	32
4.3.1. Bitki Uçucu Yağların Antibakteriyel Etkinlikleri.....	32
4.3.1.1. Agar Disk Difüzyon Yöntemi.....	32
4.3.1.2. Mikro Sulandırma Yöntemi	33
4.3.2. Bitki Uçucu Yağlarının Ana Bileşenlerinin Antibakteriyel Etkinlikleri	41
5. SONUÇ ve ÖNERİLER	46
KAYNAKLAR	49
ÖZGEÇMİŞ	57
EK-1.....	58

ÖZET

BİTKİ UÇUCU YAĞ VE BİLEŞENLERİNİN DOMATES BAKTERİYEL HASTALIK ETMENLERİ ÜZERİNE OLAN ANTİBAKTERİYEL POTANSİYELLERİNİN *in vitro* KOŞULLARDA ARAŞTIRILMASI

Bu çalışmada Hatay ili florasında yetişen origanum (*Origanum syriacum* L.var. *bevanni*), lavanta (*Lavandula stoechas* L. var. *stoechas*) ve rezene (*Foeniculum vulgare* Mill.) bitkilerden elde edilen uçucu yağların kimyasal bileşenleri gaz kromatografi-kütle spektroskopisi (GC-MS) ile analiz edilmiş ve yağların ve ana bileşenlerinin antibakteriyel etkinlikleri *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (*Pst*), *Erwinia caratovora* subsp. *caratovora* (*Ecc*), *Xanthomonas axanopodis* subsp. *vesicatoria* (*Xav*), *Agrobacterium tumefaciens* (*At*) ve *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (*Cmm*) gibi tohum kökenli domates bakteriyel hastalık etmenlerine karşı belirlenmiştir. GC-MS analizleri sonucunda 3 farklı bitki uçucu yağında 57 farklı kimyasal bileşen belirlenmiştir. Origanum, lavanta ve rezene uçucu yağlarının ana bileşenlerinin sırası ile carvacrol (%79.8), camphor (%20.2) ve *trans*-anethole (%82.8) den oluştuğu belirlenmiştir.

Gerek uçucu yağlar gerekse ana bileşenlerinin antibakteriyel etkinlikleri iki farklı metot (agar disk difüzyon ve mikro sulandırma yöntemleri) kullanılarak araştırılmıştır. *Origanum* uçucu yağı test edilen 5 bakteriyel etmene karşı 9.3 mm-35.6 mm çapında engelleme bölgesi oluşturan en etkili yağ olmuştur. Ortalama 7.6 mm-23.7 mm çapında engelleme bölgesi oluşturan lavanta uçucu yağı orta düzeyde etkinlik gösterirken, ortalama 6.5 mm-10.9 mm çapında engelleme bölgesi oluşturan rezene uçucu yağı en düşük etkinlik gösteren yağ olmuştur. Test edilen bakteriyel etmenler içinde uçucu yağlara karşı en duyarlı etmen *Cmm*, en dayanıklı etmen ise *Pst* olmuştur.

Bitki uçucu yağlarının ve carvacrol, camphor ve *trans*-anethole gibi ana bileşenlerinin minimum engelleyen dozları (MIC) mikro sulandırma yöntemi ile belirlenmiştir. Kullanılan tüm uçucu yağlar test edilen tüm bakteriyel etmenlere karşı değişen konsantrasyonlarda antibakteriyel etkinlik göstermiş olup origanum, lavanta ve rezene uçucu yağların minimum engelleyen dozları (MIC) sırasıyla 1.0 ile 7.5 µl/ml, 5.0 ile 60.0 µl/ml, 25.0 ile 120.0 µl/ml olarak belirlenmiştir. Ana bileşenler arasında carvacrol diğer ana bileşenlerden camphor ve *trans*-anethole'e göre en etkili bileşen olmuştur. Bitki uçucu yağ ve ana bileşenlerin göstermiş olduğu güçlü antibakteriyel etkinlik, bu tür doğal bileşiklerin tohum dezenfeksiyonu uygulamalarında kullanılması açısından bir potansiyele sahip olduğunu göstermiştir.

2006, 58 sayfa

Anahtar Kelimeler: Antibakteriyel, bitki uçucu yağları, domates bakteriyel hastalıkları, *Lavandula*, *Origanum*, *Foeniculum*, tıbbi bitkiler

ABSTRACT**DETERMINATION OF ANTIBACTERIAL POTENTIALS OF ESSENTIAL OILS and MAIN CONSTITUENTS AGAINST BACTERIAL DISEASE AGENTS OF TOMATO**

The chemical compositions of essential oils (EOs) extracted from oregano (*Origanum syriacum* L. var. *bevanni*), lavender (*Lavandula stoechas* L. var. *stoechas*) and fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) plants growing in the Hatay province were analyzed by means of gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) and antibacterial activities of EOs and major constituents were determined against five different seed-borne plant pathogenic bacterial agents of tomato, such as *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (*Pst*), *Erwinia caratovora* subsp. *caratovora* (*Ecc*), *Xanthomonas axanopodis* pv. *vesicatoria* (*Xav*), *Agrobacterium tumefaciens* (*At*) and *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (*Cmm*). GC-MS analysis of these EOs resulted in the identification of 57 different compounds of the essential oils. Carvacrol (79.8%), camphor (20.2%) and *trans*-anethole (82.8%) were the major constituents in oregano, lavender, and fennel essential oils, respectively.

Antibacterial activities of the essential oils and their major constituents were assayed by using two conventional methods (agar disk diffusion and micro broth dilution methods). Different degrees of bacterial growth inhibition by the EO were recorded as inhibition zones using the agar disk diffusion method. The EO from oregano were the most effective against the five bacteria tested giving mean inhibition zones of 9.3 mm and 35.6 mm diameter. Moderate activity was observed for the EO from lavender with mean inhibition zones of 7.6 mm and 23.7 diameter, while the EO from fennel was less inhibitory giving mean inhibition zones of 6.5 mm and 10.9 mm diameter. *Cmm* and *Pst* were the most and the least sensitive bacterial agents against tested EO.

Minimum inhibitory concentrations (MIC's) of EO and major constituents such as cavaracrol, camphor and *trans*-anethole, were determined using micro broth dilution tests. All of the essential oils showed antibacterial activity against all of the microorganisms tested, with minimal bactericidal MIC values in the range of 1.0 to 7.5 µl/ml, 5.0 to 60.0 µl/ml, 25.0 to 120.0 µl/ml for origanum, lavender and fennel EO respectively against tested bacterial agents. Among the major constituents, carvacrol appeared to be the most potent antibacterial agents than other major constituents *trans*-anethole and camphor. Strong antibacterial activities of essential oils and their major constituents indicated the possible use of these natural compounds as a seed disinfectant.

2006, 58 pages

Key words: Antibacterial, plant essential oils, tomato bacterial diseases, *Lavandula*, *Origanum*, *Foeniculum*, medicinal plants

ÖNSÖZ

Bu çalışmada Hatay ili ve çevresinde doğal olarak yetişen ve yöre halkının hastalıkları tedavi etmek amacıyla kullandıkları origanum, lavanta ve rezene gibi tıbbi bitkilerden elde edilen uçucu yağların kimyasal bileşenleri gaz kromatografisi ve kütle spektroskopisi (GC-MS) yardımıyla belirlenmiş olup, gerek uçucu yağlar gerekse yapısında en yüksek oranda bulunan ana bileşenleri (carvacrol, camphor ve *trans*-anethole) domates bitkilerinde sorun olan *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (*Pst*), *Erwinia caratovora* subsp. *caratovora* (*Ecc*), *Xanthomonas axanopodis* pv. *vesicatoria* (*Xav*), *Agrobacterium tumefaciens* (*At*) ve *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (*Cmm*) gibi tohum kökenli bakteriyel hastalık etmenlerine karşı antibakteriyel etkinlikleri *in vitro* koşullarda araştırılmıştır. Laboratuvar çalışmaları M.K.Ü Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü Fitopatoloji laboratuvarlarında yürütülmüştür.

Tez konumun belirlenmesinde, laboratuvar çalışmaları ve yazım aşamasında değerli fikir ve katkılarıyla çalışmalarımı yönlendiren sayın hocam Yrd. Doç. Dr. Soner SOYLU'ya sonsuz teşekkürler. Ayrıca uçucu yağların elde edilmesi hakkında verdiği değerli bilgilerden yardımlarından dolayı Yrd. Doç. Dr. E.Mine SOYLU'ya ve cihazın kullanılmasındaki yardımlarından dolayı Araş. Gör. Fatih M. TOK'a teşekkür ederim. Tez çalışmalarına maddi desteğinden dolayı M.K.Ü Araştırma Fonu'na da ayrıca teşekkür ederim.

Tüm öğrenim hayatım boyunca ve özel hayatımda maddi ve manevi desteğini hiçbir zaman esirgemeyen aileme sonsuz teşekkürler.

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<i>At</i>	<i>Agrobacterium tumefaciens</i>
<i>Cmm</i>	<i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i>
DMSO	Dimethyl sulfoxide (çözücü)
<i>Ecc</i>	<i>Erwinia caratovora</i> subsp. <i>caratovora</i>
<i>EO</i>	Uçucu yağ (Essential oil)
GC-MS	Gas Cromotography-Mass Spectroscopy (Gaz kromotogrofi ve kütle spektroskopisi)
KB	King's B Agar
LB	Luria Broth sıvı bakteri besi yeri
NA	Nutrient Agar katı besi yeri
<i>Pst</i>	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>tomato</i>
RT	Alıkonma zamanı (Retention time)
<i>Xav</i>	<i>Xanthomonas axanopodis</i> pv. <i>vesicatoria</i>
SAR	Sistemik kazanılmış dayanıklılık

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1	Denemede Uçucu Yağları Kullanılan Bitkilerin Bilimsel Adı, Yöresel Adı, Toplandığı Yer ve Toplanma Tarihleri.....	19
Çizelge 4.1	Çalışmalarda Kullanılan Bitkilerden Elde Edilen Uçucu Yağlarının Genel Özellikleri.....	29
Çizelge 4.2	Çalışmalarda Kullanılan Bitki Uçucu Yağların Kimyasal Kompozisyonu	30
Çizelge 4.3	Bitki Uçucu Yağlarının Domateste Sorun Bakteriyel Hastalık Etmenlerine Karşı Antibakteriyel Etkinliği.....	33
Çizelge 4.4	Farklı Bitki Uçucu Yağların Domates Bakteriyel Benek Hastalık Etmeni <i>P. syringae</i> pv. <i>tomato</i> 'ya Karşı Antibakteriyel Etkinliği.....	35
Çizelge 4.5	Farklı Bitki Uçucu Yağların Domates Gövde Öz Çürüklüğü Etmeni <i>E.caratovora</i> subsp. <i>caratovora</i> 'ya Karşı Antibakteriyel Etkinliği....	36
Çizelge 4.6	Farklı Bitki Uçucu Yağların Domates Bakteriyel Leke Hastalığı Etmeni <i>X.axanopodis</i> pv. <i>vesicatoria</i> 'ya Karşı Antibakteriyel Etkinliği.....	37
Çizelge 4.7	Farklı Bitki Uçucu Yağların Domates Bakteriyel Solgunluk Hastalığı Etmeni <i>C.michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i> 'e Karşı Antibakteriyel Etkinliği.....	38
Çizelge 4.8	Farklı Bitki Uçucu Yağların Bakteriyel Ur Hastalığı Etmeni <i>A.tumefaciens</i> 'e Karşı Antibakteriyel Etkinliği.....	39
Çizelge 4.9	Bitki Uçucu Yağ Ana Bileşenlerinin Farklı Konsantrasyonlarının Domateste Sorun Bakteriyel Hastalık Etmenlerine Karşı Antibakteriyel Etkinliği.....	43

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1	Domates bitkilerinde sorun önemli bakteriyel hastalık etmenlerinden <i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>tomato</i> , <i>Erwinia caratovora</i> subsp. <i>caratovora</i> , <i>Xanthomonas axanopodis</i> pv. <i>vesicatoria</i> domates, <i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i> tarafından gövde, yaprak ve meyvede oluşturulan hastalık belirtileri.....	2
Şekil 3.1	Çalışmalarda uçucu yağları kullanılan tıbbi bitkilerden, origanum (<i>O. syriacum</i> var. <i>bevanni</i>), lavanta (<i>L. stoechas</i> var. <i>stoechas</i>) ve rezene (<i>F. vulgare</i>) bitkilerinin doğal olarak yetiştiği alanlarındaki görünüşleri.....	20
Şekil 3.2	Uçucu yağların çıkartılmasında kullanılan Clevenger tipi yağ çıkartma aleti ve mantolu ısıtıcısının genel görünümü.....	23
Şekil 3.3	Agar disk difüzyon tekniği ile uçucu yağların antibakteriyel etkinliğinin belirlenmesi.....	25
Şekil 3.4	Mikro sulandırma tekniği ile uçucu yağların antibakteriyel etkinliğinin belirlenmesi.....	27

1. GİRİŞ

Bitkisel protein ve çeşitli vitaminler bakımından oldukça zengin olan domates, taze, konserve ve sanayi ürünleri (salça, suyu vb.) olarak dünya ülkelerinde olduğu gibi ülkemizde de en fazla tüketilen sebzelerdendir. Türkiye, 2003 yılı verilerine göre 9,750,000 ton üretim ile Çin ve A.B.D' den sonra dünyanın 3. büyük domates üreticisi ülkesidir (ANONYMOUS, 2003). Hatay ilinde toplam 38.058 da sebze alanlarının 8.030 da alanında domates yetiştiriciliği yapılmaktadır. İlimizde üretilen 901.000 ton sebzenin 280.580 tonunu domates üretimi oluşturmaktadır (ANONİM, 2003).

Ülkemiz ekonomisi içinde önemli bir bitki olan domates üretimi, birçok bakteriyel, fungal ve viral patojenler tarafından olumsuz yönde etkilenmektedir. Domates bitkisinin ekim alanlarını kısıtlayan, verim ve kalitesini etkileyen sıcaklık, yağış, toprak yapısı gibi abiyotik ile fungal, viral ve bakteriyel hastalık etmenleri gibi biyotik faktörler önemli bir yer tutarlar. Domates bitkisinde görülen fitoplasma ve viral etmenler arasında tomato yellow leaf curl, tomato Etch, tomato yellow top, stolbur, PVY ve TMV önemli yer tutarken, fungal hastalık etmenlerinden yaprak kökenli fungal hastalık etmenlerinden *Alternaria solani*, *Botrytis cinerea*, *Phytophthora infestans*, *Leveillula taurica*, toprak kökenli hastalık etmenlerinden *Fusarium oxysporum*, *Macrophomina phaseolina*, *Phytophthora capsici*, *Pythium* spp., *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum* gibi hastalık etmenleri domateste erken yanıklık, gri küf, mildiyö, külleme, solgunluk, kök ve kök boğazı çürüklüğü gibi hastalıklara sebep olan, bitkinin fide döneminde olduğu kadar ileri dönemlerinde de ortaya çıkan ve erken enfeksiyonlarda bitki ölümlerine neden olan önemli fungal hastalık etmenleridir (WILLETTS ve WONG, 1980; DIXON, 1984; SMITH ve ark., 1988; JONES ve ark., 1993).

Domates üretimini ve verimini olumsuz yönde etkileyen birçok cinse dahil önemli bakteriyel hastalık etmenleri bulunmaktadır (SMITH ve ark., 1988). Bunlardan en önemlileri domates bakteriyel benek hastalığı etmeni (*Pseudomonas syringae* pv. *tomato*), bakteriyel gövde nekrozu ve öz çürüklüğü etmenleri (*Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*), bakteriyel solgunluk etmeni (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*) ve bakteriyel leke etmeni (*Xanthomonas axanopodis* pv. *vesicatoria*)'nin neden olduğu hastalıklardır (**Şekil 1.1**).



Şekil 1.1. Domates bitkilerinde sorun önemli bakteriyel hastalık etmenlerinden *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (A ve B), *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* (C ve D), *Xanthomonas axanopodis* pv. *vesicatoria* domates (E) ve biber yaprağında (F), *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (G ve H) tarafından gövde, yaprak ve meyvede oluşturulan hastalık belirtileri. H, meyve üzerindeki tipik kuşgözü belirtilerini (oklar) göstermektedir.

Bu hastalık etmenleri özellikle ılıman iklim bölgelerinde ve inokulumun fazla olduğu sera ve açık alan domates yetiştiriciliği yapılan alanlarda önemli zararlar meydana getirmektedir.

Domates bakteriyel benek (veya bakteriyel kara leke) hastalığı etmeni olan *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*, domates bitkisinin gövde, yaprak, sap, çiçek ve meyve sapsarı gibi toprak üstü aksamalarda kahverengiden siyaha kadar değişen renkte lekeler (**Şekil 1.1A ve B**), meyvelerde ise çapları 1 mm'yi geçmeyen yüzeysel kabarcıklar şeklinde belirtilere neden olur. Yapraktaki lekeler önceleri küçük, yuvarlak, koyu renkli ve sınırsızdır. Bu lekeler zamanla birleşerek büyük lekelere dönüşür. Bitkinin ilk çiçeklenme döneminde ortaya çıkması durumunda meyve tutumunu etkileyeceğinden, hastalık etmeni bitkide önemli düzeyde verim kaybına neden olur. Meyvelerde ortaya çıkan lekeler ürünün pazar değerini düşürür. Bitkiler hasada kadar canlı kalmakta, yıkılmamakta, fakat meyve tutumu az olmakta ve gelişme geriliği görülmektedir. Dünyanın domates üretimi yapıldığı pek çok alanda görüldüğü gibi (JONES ve ark., 1993), hastalık etmeni ülkemizde de domatesin en önemli bakteriyel hastalık etmenlerinin başında yer alır (KARACA ve SAYGILI, 1982; AYSAN ve ÇINAR, 2002).

Bakteriyel yumuşak çürüklük etmeni olan *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*'dan etkilenmiş bitkilerin toprak üstü aksamaları en dış yapraklardan başlayarak solmakta ve kurumaktadır. Bitkinin kök ve kök boğazı kısımlarındaki öz dokuları kahverengileşerek çürümekte (**Şekil 1.1C ve D**) ve pis bir koku etrafa yayılmaktadır. Epidemiyet durumlarında bitkiler ölmekte ve tarlada boşluklar oluşturmaktadır (DHANVANTARI ve DRIKS, 1987). Hastalığın ülkemizde ilk varlığı ÇINAR ve AYSAN (1995) tarafından belirlenmiş olup, Ege bölgesinde de önemli ekonomik kayıplara neden olduğu bildirilmiştir (ÜSTÜN ve SAYGILI, 2001).

Domates bakteriyel leke etmeni *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria*'nın neden olduğu lekeler bitkinin toprak üstündeki bütün kısımlarında (yaprak, gövde, çiçek sapı ve meyve) görülür. Hastalık belirtileri yapraklar üzerinde çok küçük sulu benekler şeklinde görülür. Benekler zamanla siyahlaşarak yağlı bir görünüş alır. Meyvedeki lekeler koyu renkte ve etrafı sulu bir saha ile çevrilidir. Daha sonra bu alanlar kuruyarak çökük nekrotik bir hal alır (JONES ve ark., 1993). Hastalık belirtileri her ne kadar bakteriyel benek hastalık belirtilerine benzese de, *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* etmeni gerek yaprak, yaprak sapı, sap ve çiçek gerekse meyve üzerinde oluşturduğu lekeler *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* etmeni tarafından oluşturulan

lekelerden daha büyüktür ve lekeler daha düzensizdir (**Şekil 1.1E ve F**). Başlangıçta küçük ve az sayıda olan meyve lekeleri zamanla büyük ve çukur görümlü çürümeler meydana getirir. Meyvedeki lezyonların orta kısımları zamanla çatlar. Meyve sapı ve genç saplardaki ilk belirtiler yaprak belirtilerine benzer sert ve ince uzun çizgiler şeklinde görünüm alırlar.

Bakteriyel solgunluk etmeni olan *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* domates bitkilerinde solgunluğa neden olur. Hastalık aynı zamanda bakteriyel kanser olarak bilinir. Etmenin sistemik enfeksiyon özelliği nedeniyle solgunluk belirtileri domates bitkisinde genellikle tek yönlü sürgün ve yaprakçıklarının solması şeklinde görülür. İlerleyen bakteri meyve ve tohuma ulaşır. Enfeksiyon başlangıcında sürgün boyuna kesilip incelendiğinde iletken dokularının ince çizgi şeklinde sarı renk aldığı görülür. Solgunluk kısa bir süre sonra kuruluğa dönüşür (**Şekil 1.1 G**). Etmen ileri devrelerde gövde ve sürgünlerde yara ve çatlaklara neden olur. Bu özellikleri nedeniyle bu hastalığa bakteriyel kanser de denir. Hastalık etmeni meyvelerde ortası açık kahve renkli, çevresi beyaz haleli ve kuşgözü lekesi olarak tanımlanan lekeler oluşturur (**Şekil 1.1H**). Erken meyve enfeksiyonları şekil bozukluklarına neden olur. Enfekteli tohumların rengi değişir ve çimlenme gücünü yitirir. Meyve belirtisi de bakteriyel solgunluğu diğer solgunluklardan ayıran bir belirtidir. Etmen hasta bitki artıkları ile toprağa geçer. Gelişmekte olan domates bitkisinin köklerinden giriş yaparak veya genç fide yapraklarının stomalarından girerek iletim demetlerine geçer ve buralarda gelişir, zamanla bitkinin diğer dokularına yayılır (GLEASON ve ark., 1993). Hastalık etmeninin varlığı ülkemizde de bildirilmiştir (KARACA ve SAYGILI, 1982; SAHİN ve ark., 2002).

Agrobacterium tumefaciens geniş konukçu dizilimine sahip olan bir bakteriyel etmen olup, domatesteki özellikle kök boğazı bölgesinde urlara neden olur. Hastalık etmeni daha çok meyve fidanlarında görülmekte olup, farklı bir türü olan *Agrobacterium radiobacter*'in İngiltere'de seralarda çok nadir olarak ortaya çıktığı bildirilmiştir (WELLER ve O'NEILL, 2006).

Artan dünya nüfusunun ihtiyacını karşılamak için kültür bitkilerinin sağlıklı ve güzel görünüşlerinin korunmasının yanısıra ürün miktarında artışın sağlanması, öncelikle ürün kayıplarına neden olan hastalık etmenleriyle, zararlılar ve yabancı otlar ile etkin olarak mücadele edilmesi gerekliliğini ortaya koymaktadır. Bu amaçla kültürel, fiziksel, mekanik ve kimyasal mücadele yöntemleri geliştirilmiştir. Hastalık etmenleriyle mücadelede genellikle dayanıklı çeşit ekimi, temiz tohum kullanılması ve

kültürel tedbirlerin alınması önerilmekle birlikte, hastalıklara karşı pek etkili sonuç alınmamaktadır. Çiftçiler tarafından hastalıkla mücadelede çoğunlukla pestisid uygulamasına gidilmekte olup, uygun iklim şartlarında patojen yoğun inokulum kaynağı oluşturup hızlı bir şekilde epidemi yapmaktadır. Bu durumda tüketicinin istemediği, fakat çiftçinin çaresiz kalmasına yol açan yoğun pestisit uygulaması yapılmaktadır.

Kısa vadede geçici çözüm olabilen bu yöntem uzun vadede ve özellikle de yoğun ve bilinçsizce yapılan uygulamalar pek çok sorunu da beraberinde getirmektedir. Yoğun pestisit uygulaması bir yandan bitki üzerinde kalarak insan sağlığını tehdit etmekte, bir yandan da çevreye ve doğal dengeye etkide bulunarak kirliliğe sebep olmaktadır. Bu duruma ilaveten, sıkça ve yüksek dozlarda kimyasal ilaç uygulamaları sonucu patojenin atılan pestisitlere dayanıklı yeni ırkların ortaya çıkmasına sebep olmaktadır (PAPPAS, 1982). Dayanıklı ırkların gözlendiği alanlarda yapılan ilaçlı mücadeleden artık sonuç alınmamaktadır. Son yıllarda tüketicinin bilinçlenmesi ve tarım alanlarında kullanılan yoğun pestisit uygulamalarının çevreyi ve doğal dengeyi tehdit etmesi gelişmiş ülkelerde pestisit uygulamalarına sınır getirilmesine sebep olurken, bu durum hastalıkla mücadelede acil alternatif mücadele yöntemlerinin araştırılmasının gerekliliğini ortaya koymuştur.

Günümüzde kimyasal savaş dışında hastalıklarla mücadelede kullanılan alternatif yollardan bazıları uzun süreli ürün rotasyonu ve hastalığa dayanıklı çeşitlerin ıslahıdır. Ürün rotasyonu ve toprak sterilizasyonları günümüz şartlarında yeterince ekonomik ve pratik uygulamalar olmaması nedeniyle pek etkili olamazken, hastalığa dayanıklı bitki çeşitlerinin ıslahı genelde uzun yıllar araştırma gerektiren konulardır.

Hastalıklarla alternatif mücadele yollarından bir diğeri olan biyolojik mücadele, günümüzde oldukça rağbet görmekte olup, birçok bitki hastalık etmenine karşı çoğunlukla fungal kökenli biyolojik preparatlar geliştirilerek başarılı bir şekilde kullanılmaya başlanmıştır (PAULITZ ve BELANGER, 2001).

Bitkilerde patojenler ile mücadelede kullanılan pestisit uygulamalarına alternatif yol olarak bitkilerde doğal olarak bulunan ve pek çok patojenlere karşı oldukça etkili olan dayanıklılık mekanizmaları uyarılarak harekete geçirilebilir. Bitkilerde bu şekilde teşvik edilen dayanıklılık sistemik kazandırılmış dayanıklılık (SAR, systemic acquired resistance) olarak adlandırılmakta olup, SAR bitkilerde geniş konukçu dizilimine sahip birçok viral, bakteriyel ve fungal hastalık etmenleri ile nematodlara karşı etkili bir koruma sağlamıştır (KESSMANN ve ark., 1994; RYALS ve ark., 1994).

Alternatif mücadele metotlarından biri de doğal pestisitler ve özellikle de bitkilerden elde edilen maddeler günümüzde pek çok araştırmacı gruplarının ilgisini çekmiş olup, hastalığın ortaya çıktığı birçok konukçu-patojen ilişkilerindeki rolleri pek çok yönden araştırılmaya başlanmıştır. Bitkilerden elde edilen maddeler doğal olmaları, kısa zamanda doğada dekompoze olarak çevre kirliliğine neden olmamaları, kalıntı süresinin uzun olmaması gibi olumlu özelliklerinden dolayı sentetik organik maddelere karşı tercih edilmektedir. Bitkilerde sorun olan patojenlerle mücadele çalışmalarında kullanılan doğal kökenli bileşikler genellikle tıbbi bitki veya baharat niteliği taşıyan bitkilerden elde edilir. Bitkilerden elde edilen aromatik uçucu yağlar (aynı zamanda esansiyel yağlar veya eterik yağlar olarak ta adlandırılmaktadır) genellikle sabun, parfüm ve kozmetik endüstrisinde kullanılan önemli hammaddelerden biridir. Bu sektör dışında bitki uçucu yağları geleneksel olarak aroma terapi ve insanlarda bir çok hastalıkların tedavisinde geçmişten günümüze kadar sıkça kullanılan kimyasal bileşiklerdendir. Bitki uçucu yağlarının antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu yapılan pek çok araştırmalarla ortaya konulmuş ve konu ile ilgili pek çok derleme yayımlanmıştır (BROWMICK ve CHAUDHARY, 1982; THOMPSON, 1986; ALICE ve RAO, 1987; ARRAS ve GRELLA, 1992; LOCKE ve ark, 1993; MAUDSLEY ve KERR, 1999; AMADIOHA, 2000; ISMAN, 2000; BURT, 2004).

Ülkemizde de buna benzer birçok bitkinin doğal olarak yetiştiği, bunların değişik amaçlarla kullanıldığı gibi zararlı ve hastalık etmenlerine karşıda kullanıldığı bildirilmiştir (AKGÜL ve KIVANÇ, 1988; YEĞEN ve ark., 1992; TÜRKÜSAY ve ONOĞUR, 1998; BASIM ve ark., 2000; TUNÇ ve ark., 2000; ÖZCAN ve ERKMEN, 2001; YILDIZ ve ark., 2001; SOYLU ve ark., 2003; DADALIOĞLU ve EVRENDİLEK, 2004; SOYLU ve ark., 2006).

Hatay bölgesinde yapılan sörveylerde bu bitkilerden kekik, origanum, defne, rezene, lavanta, pelin otu, biberiye vb. bitkilerin büyük bir kısmının doğal ve yoğun olarak yetişmekte olduğu, yöre halkının bu bitkilerin büyük bir çoğunluğunu bazı hastalıkları tedavide kullandığı belirlenmiştir (AYANOĞLU ve ark., 2000).

Origanum syriacum L., halk arasında Halil İbrahim zahteri, zahter, kekik, Suriye kekiği ve origanum gibi adlarla anılan (ERDEMİR, 2001) bir kekik bitkisi olup *Lamiaceae* familyasının Majorana (Miller) Bentham kısmına dahildir (TÜMEN ve BAŞER, 1993). Bu bitki türünün 3 varyetesi bulunmakta olup var. *syriacum* İsrail, Ürdün ve Suriye'de; var. *bevanii* (Holmes) Ietswaart Türkiye, Lübnan, Kıbrıs ve Suriye'de; var *sinaicum* (Boissier) Ietswaart ise Sinai yarımadasında (Mısır ve İsrail)

yetişmektedir. *O. syriacum* bitkisinin yetiştiği bölge ve varyetesine bağlı olarak kimyasal bileşenlerinin değişiklik gösterdiği, *O. syriacum* var. *bevanii* bitkisinin uçucu yağının ana bileşenin carvacrol olduğu bildirilirken, İsrail’de yetişen *O. syriacum* uçucu yağının yüksek oranda thymol (%59.9) veya carvacrol (%80.2) iğerdiği bildirilmiştir. Mısır’da yetişen *O. syriacum* bitki uçucu yağının ise yüksek oranda carvacrol (%76.7) iğerdiği tespit edilmiştir.

Lavanta bitkisi (*Lavandula stoechas* subsp. *stoechas* L.) yine *O. syriacum* gibi *Lamiaceae* familyasının yesi olup halk arasında karabaş lavanta, keşiş otu, garyan gibi adlarla bilinir (AYANOĞLU ve ark., 2000; ERDEMİR, 2001). Bu bitkinin uçucu yağındaki önemli bileşikleri β -pinene, linalool, camphor, α -terpineol, fenchon ve 1,8-cineol’dr (CAVANAGH ve WILKINSON, 2002). Kökeni Akdeniz bölgesi olan lavanta, halk arasında biręok amaçla kullanılmakta olup, güzel kokusu nedeni ile parfümeri ve kozmetik sanayisinin yanı sıra sinir yatıştırıcı ve ağrı giderici özelliklerinden dolayı ilaç sanayisinde de geniş lęde değerlendirilmektedir. Bunun yanı sıra şeker hastaları tarafından bitkisel ęay olarak da tüketilmektedir (SKOULA ve ark., 1996). Antiseptik, ağrı kesici, yara iyileştirici, balgam söktürücü, egzema yaralarını iyi edici, sinir ve kalp kuvvetlendirici gibi etkileri nedeniyle geniş bir kullanıma sahiptir (ERDEMİR, 2001).

Rezene (*Foeniculum vulgare* Mill) *Umbelliferae/Apiaceae* familyasının üyesidir. Rezene halk arasında arap sağı, şumra, raziyane, tatlı rezene gibi adlarla anılır (ERDEMİR, 2001). Rezenenin bileşiminde % 3-7 uçucu ve sabit yağ bulunur. Uçucu yağ genellikle rezene bitkisinin tohumlarından elde edilmekte olup, elde edilen uçucu yağdaki en önemli bileşiğin *trans*-anethole, fenchone, feoniculin ve methyl carvacrole olduğu bildirilmiştir (RUBERTO ve ark., 2000). Kökeni Akdeniz Bölgesi olan rezene yaygın olarak ęay şeklinde sıcak iğecek olarak, yemeklerde ve salatalarda lezzet vermek için ve bazı sert iğkilerde kullanılır. Rezenenin balgam söktürücü, diüretik, süt gelişini arttırıcı, hazmettirici, gaz söktürücü, yatıştırıcı, ağrı kesici ve ateş düşürücü gibi etkileri vardır (ERDEMİR, 2001).

Yapılan bu çalışma ile Hatay ili florasında yetişen *Lamiaceae* familyasına dahil olan origanum (*Origanum syriacum* L. var. *bevanni*), lavanta (*Lavandula stoechas* L. var. *stoechas*) ve *Apiaceae* familyasına dahil rezene (*Foeniculum vulgare* Mill.) bitkilerinden elde edilen uçucu yağlar farklı cinslere dahil olan domates patojeni bakteriyel hastalık etmenlerinden *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*, *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*, *Xanthomonas axanopodis* pv. *vesicatoria*, *Agrobacterium tumefaciens* ve *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*'e karşı kimyasal mücadeleye alternatif bir yöntem olarak yararlanabilme olanakları *in vitro* koşullarında araştırılmıştır. Bu kapsamda bitki uçucu yağlarının antibakteriyel etkinliği agar disk difüzyon ve mikro seyreltme yöntemleri ile belirlenmiştir. Bitki uçucu yağların kimyasal bileşenleri ise gaz kromatografisi ve kütle spektroskopisi (GC/MS) yöntemiyle tespit edilmiştir. Uçucu yağların yanı sıra, bu yağlar içerisinde en yüksek oranlarda bulunan 3 ana bileşenlerinden carvacrol, camphor ve *trans*-anethole'ün test edilen fitopatojen bakteriyel etmenlere karşı antibakteriyel etkinliği ilk kez bu çalışma ile araştırılmıştır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Bitki Uçucu Yağların Fitopatojen Bakteriyel Hastalık Etmenlere Karşı Antibakteriyel Etkinlikleri Üzerine Yapılan Çalışmalar

SATISH ve ark. (1999), 30 farklı bitkiden elde ettikleri sulu bitki ekstraktlarının farklı *Xanthomonas campestris* patovarlarına karşı antibakteriyel etkinliklerini araştırdıkları çalışmalarında, 8 bitki ekstraktının önemli düzeyde antibakteriyel etkinlik gösterdiğini belirlemişlerdir. Özellikle *Prosopis juliflora*, *Oxalis corniculata* ve *Lawsonia inermis* isimli bitkilerden elde edilen ekstraktların yüksek düzeyde antibakteriyel etkinlik gösterdiğini belirledikleri çalışmalarında patojenlerin farklı patovarlarının ekstraktlara farklı düzeylerde duyarlılık gösterdiğini bildirmişlerdir. Ekstraktlardan bazılarının sentetik antibiyotiklerden, bacterimycin ve streptocycline ile karşılaştırıldığında oldukça iyi bir düzeyde antibakteriyel etkinlik gösterdiğini tespit etmişlerdir. Sonuçta bitki ekstraktlarının *X. campestris* tarafından sebep olunan hastalıkların mücadelesinde potansiyele sahip olduğunu bildirmişlerdir.

BASIM ve ark. (2000), *Thymbra spicata* L. var. *spicata* bitkisinden elde ettikleri uçucu yağları altı önemli fitopatojen bakteriyel etmenlere karşı (*Erwinia amylovora*, *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*, *Agrobacterium tumefaciens* ve *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria*) olan antibakteriyel etkinliklerini araştırmışlardır. Sonuçta uçucu yağın gerek buhar gerekse değme şeklindeki etkinliğinin test edilen bakterilere karşı yüksek olduğunu, uçucu yağın buhar etkisinin değme etkisine göre daha yüksek düzeyde etkiye sahip olduğunu tespit etmişlerdir.

DEL CAMPO ve ark. (2000), biberiye (*Rosmarinus officinalis*) bitkisinden elde ettikleri bitki ekstraktın antioksidant ve antibakteriyel etkinliğini gerek gıda (*Leuconostoc mesenteroides*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*) gerekse fitopatojen (*Erwinia carotovora*, *Rhodotorula glutinis*, *Cryptococcus laurentii*) bakterilere karşı araştırmışlar, sonuçta biberiye uçucu yağının Gram-pozitif bakterilere etkinliğinin Gram- negatif bakterilere oranla daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir.

KARAMANOLI ve ark. (2000), yapmış oldukları çalışmalarında lavanta (*Lavandula angustifolia*), biberiye (*Rosmarinus officinalis*), adaçayı (*Salvia fruticosa*), oregano (*Origanum vulgare* subsp. *hirtum*) bitkilerinden elde ettikleri uçucu yağları in

vitro koşullarda fitopatojen bakterilere karşı antibakteriyel özelliklerini araştırmışlardır. Sonuçta oregano ve adaçayı yapraklarından elde edilen uçucu yağların lavanta ve biberiye uçucu yağına oranla daha fazla antibakteriyel etkinliğe sahip olduklarını belirlemişlerdir.

THOPPIL ve ark. (2000), *Ocimum adscendens* bitki uçucu yağının aralarında fitopatojen hastalık etmeni *Xanthomonas campestris* etmeninde bulunduğu birçok insan (*Bacillus subtilis*, *B. megaterium*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*) ve bitki (*Proteus vulgaris*, *Xanthomonas campestris*, *Aspergillus niger*, *Rhizopus oryzae* ve *Colletotrichum musae*) patojeni olan bakteriyel ve fungal etmenlere karşı antimikrobiyal etkinlik gösterdiğini rapor etmişlerdir.

NAGARAJ ve ark. (2001), Hindistan'da yetiştirilen birçok tıbbi bitkiden elde edilen bitki uçucu yağlarını, aralarında dut ağaçlarında sorun olan fitopatojen bakteriyel hastalık etmeni *X. campestris* pv. *moricola*'nın da bulunduğu bakterilere karşı test etmişler, sonuçta kullanılan uçucu yağlar içerisinde *Ocimum sanctum* bitkisinden elde edilen yağın en yüksek düzeyde antimikrobiyal etkinliğe sahip olduğunu ve bu yağı sırasıyla limon yağı ve sarmısak ekstraktının izlediğini belirlemişlerdir.

MINIJA ve THOPPIL (2002), *Apiaceae* familyasına bağlı rezene (*Foeniculum vulgare*) ve maydanozdan (*Petroselinum crispum*) elde ettikleri bitki uçucu yağlarının kimyasal bileşenlerini ve antibakteriyel etkinliklerini araştırdıkları çalışmalarında rezene bitkisinin uçucu yağının % 96,7 gibi yüksek oranda *trans*-anethole içerdiğini belirlerken, maydanoz bitkisinin uçucu yağında myristicin isimli bileşenin %93,1 düzeyinde bulunduğunu belirlemişlerdir. Her iki bitki uçucu yağı altı farklı insan patojeni (*Escherichia coli*, *B. megaterium*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Bacillus subtilis*, *Proteus vulgaris*) ve bitki patojeni (*Xanthomonas campestris*, *Aspergillus niger*, *A. parasiticus*, *Rhizopus oryzae*, *Fusarium solani*, *Nectria haematococca*, *Colletotrichum musae*) bakteriyel ve fungal etmenlere karşı test ettikleri çalışmalarında, rezene uçucu yağının maydanoz uçucu yağına oranla daha yüksek düzeyde antimikrobiyal aktivite gösterdiğini belirlemişlerdir.

DEENA ve ark. (2002), *C. aromaticus* ve *C. zeylanicus* gibi bitkilerden elde ettikleri bitki uçucu yağları, insan (*Bacillus megaterium*, *B. subtilis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*) ve bitki (*Xanthomonas campestris*, *Aspergillus niger*, *A. parasiticus*, *Rhizopus oryzae*, *Rhizoctonia oryzae-sativae*, *Colletotrichum musae*, *Fusarium solani* ve *Alternaria brassicicola*) patojeni olan bakteri ve fungal etmenlere karşı kullanılmış olup sonuçta bu

yağlar içerisinde *C. zeylanicus*'un uçucu yağının *C. aromaticus* isimli bitkinin uçucu yağına oranla daha yüksek ve daha geniş spektrumda antimikrobiyal etkiye sahip olduğu bildirilmiştir.

BASIM ve BASIM (2003), Isparta ilinde yetişen gül bitkisinin (*Rosa damascena*) petal yapraklarından elde ettikleri bitki uçucu yağları *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria*'nın üç farklı ırkına karşı olan antibakteriyel etkinliklerini araştırmışlar ve sonuçta gül yağınının *in vitro* koşullarda göstermiş olduğu antibakteriyel etkinlikten dolayı, bu yağların hastalık etmeninin mücadelesinde potansiyel bir biyokontrol ajanı olabileceğini belirtmişlerdir.

DAFERERA ve ark. (2003), kekik türleri (*Thymus capitatus*, *Origanum vulgare*, *Origanum dictamnus*, *Origanum majorana*), lavanta (*Lavandula angustifolia*), biberiye (*Rosmarinus officinalis*), adaçayı (*Salvia fruticosa*) ve yarpuz (*Mentha pulegium*) uçucu yağlarının, domateste sorun olan fungal ve bakteriyel hastalık etmenlerinden *Botrytis cinerea*, *Fusarium solani* var. *coeruleum* ve *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Çalışma sonucunda kekik türlerinin uçucu yağlarının düşük dozlarının *B. cinerea*, *Fusarium* sp. ve *C. michiganensis* subsp. *michiganensis*'in gelişimini tamamen engellediğini, lavanta, biberiye, adaçayı ve yarpuz bitkilerinin uçucu yağlarının düşük engelleme aktivitesi gösterdiğini belirtmişlerdir. *T. capitatus*, *O. dictamnus*, *O. majorana* yağlarının carvacrol ile zengin iken, *O. vulgare* yağının içeriğinin thymol olduğunu belirtmişlerdir. Eucalyptol, adaçayı ve biberiye yağlarının temel bileşeni iken, lavanta yağının içeriğini linalool ve linalyl acetate olarak karakterize etmişlerdir. Yarpuz yağının cis-menthone ve pulegone ile zengin olduğunu da belirtmişlerdir.

LAOUER ve ark. (2003), *Ammoides pusilla* isimli bitkiden elde ettikleri bitki uçucu yağlarının gerek kimyasal gerekse antimikrobiyal etkinliğini araştırdıkları çalışmalarında uçucu yağın yüksek oranda thymol (%44.5), γ -terpinene (%32.9) ve *p*-cymene (%13.5) içerdiğini tespit etmişlerdir. Bitki uçucu yağının, aralarında fitopatojen bakteriyel etmenlerden *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* ve *Pseudomonas syringae* pv. *morsprunorum*'unda bulunduğu birçok bakteriyel, fungal ve maya patojenlerine karşı test ettikleri çalışmalarında uçucu yağın kullanılan tüm patojenlere karşı antifungal ve antibakteriyel etkinliğe sahip olduğunu bildirmişlerdir.

PRADHANANG ve ark. (2003), farklı konsantrasyonlarda thymol, palmarosa, ve lemongrass uçucu yağını fumigant olarak kullandıkları topraklarda domates solgunluk etmeni *Ralstonia solanacearum* populasyon gelişiminin kontrol uygulamalarına göre

önemli düzeyde düşürüldüğünü bildirmişlerdir. Bu yağları içeren bitkilerin verildiği topraklarda ise hastalık gelişiminin durdurulamadığı bildirilmiştir.

THAKARE ve ark. (2003), altı farklı tıbbi bitkilerden (*Mentha*, *Ocimum*, *Lemongrass*, *Citronella*, *Turmeric*, *Palmarosa* spp.) elde ettikleri bitki uçucu yağlarının antibakteriyel ve antifungal etkinliğini fitopatojen bakteriyel (*Xanthomonas axonopodis* pv. *malvacearum*) ve fungal hastalık etmenlerine (*Rhizoctonia bataticola*, *Macrophomina phaseolina*) karşı araştırmışlardır. Sonuçta kullanılan uçucu yağlar içerisinde *Mentha* ve *Ocimum* bitki uçucu yağının gerek fungal gerekse bakteriyel hastalık etmenlerine karşı yüksek düzeyde antimikrobiyal etkinlik gösterdiğini tespit etmişlerdir.

HORVATH ve ark. (2004), *Lamiaceae* familyasına dahil dört kekik türüne (*Thymus vulgaris* L., *Thymus serpyllum* L., *Thymus x citriodorus* (Pers.) Schreb., ve *Thymus x citriodorus* "Archer's Gold") ait uçucu yağları, kimyasal bileşenlerini ve antibakteriyel etkinliklerini araştırdıkları çalışmalarında; kekik bitkisinin ana bileşenlerinin türlere bağlı olarak değiştiğini, *Thymus vulgaris* ve *Thymus serpyllum*'un ana bileşenlerinin thymol, *Thymus x citriodorus*'un geraniol, *Thymus x chriodorus*'un ise ana bileşeninin carvacrol olduğunu belirlemişlerdir. Dört kekik türünün uçucu yağı fitopatojen bakteriyel etmenlerden *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* ve *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*'ya karşı yüksek düzeyde antibakteriyel etkinlik gösterdiğini belirlemişlerdir.

IACOBELLIS ve ark.(2005), *Cuminum cyminum* L. ve *Carum carvi* L. bitkilerinin meyvelerinden elde etmiş oldukları bitki uçucu yağlarının kimyasal bileşenlerinin yanısıra Gram-pozitif ve Gram-negatif fitopatojen bakteriyel türlere karşı antibakteriyel etkinliğini agar disk difüzyon yöntemi kullanarak araştırmışlardır. Çalışma sonucunda bu bitkilerden elde edilen uçucu yağlarının γ -terpinene, β -pinene, carvone, limonene, germacrene-D gibi bileşenlerden meydana geldiğini *Clavibacter*, *Curtobacterium*, *Rhodococcus*, *Erwinia*, *Xanthomonas*, *Ralstonia*, ve *Agrobacterium* gibi önemli fitopatojen bakteriyel etmenlere karşı antibakteriyel özellik taşıdığını, bu yağların kullanılan bakteri türleri arasında en düşük antibakteriyel etkinliği *Pseudomonas* cinsine dahil bakteri türlerine karşı olduğunu bildirmişlerdir.

NGUEFACK ve ark. (2005), beş bitkiden (*Cymbopogon citratus*, *Monodora myristica*, *Ocimum gratissimum*, *Thymus vulgaris* ve *Zingiber officinale*) elde ettikleri uçucu yağların antibakteriyel etkinliğini beş önemli tohum kökenli fitopatojen bakteriyel hastalık etmenlerine karşı (*Acidovorax avenae* subsp. *avenue*, *Burkholderia*

glumae, *B. plantarii*, *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* ve *X. oryzae* pv. *orizicola*) araştırmışlardır. Yağlar içerisinde *O. gratissimum* ve *T. vulgaris* uçucu yağların diğer uçucu yağlara oranla daha etkili olduğunu belirlemişlerdir. Ayrıca *O. gratissimum* ve *T. vulgaris*'in uçucu yağlarının antibakteriyel etkinliği *in vivo* koşullarda da araştırılmıştır. Elde ettikleri sonuçlara bakıldığında bitki uçucu yağının hastalık etmenlerinin tohumla taşınmasını önemli derecede engellediği görülmüştür.

KIZIL ve UYAR (2006), ülkemizin farklı bölgelerinden toplanan *Thymbra*, *Origanum*, *Satureja*, *Thymus* ve *Coridathymus* türlerine ait bitki uçucu yağlarının kimyasal bileşenlerini GC/MS ile araştırdıkları çalışmalarında uçucu yağların antifungal ve antibakteriyel özelliklerini belirlemişlerdir. Araştırma sonucunda *Thymus*'ta ana bileşenin %41,6 ile thymol olduğunu belirlerken, *Origanum onites*'in %40,7, *Satureja hortensis* %20,6 ve *Thymbra spicata* %81 ile ana bileşenlerinin carvacrol olduğunu belirlemişlerdir. Uçucu yağların fitopatojen bakteriyel etmenlerden *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* ve *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*'ya karşı güçlü antibakteriyel etki gösterdiklerini, *Xanthomonas campestris* pv. *malvacearum*'a karşı ise zayıf antibakteriyel etki gösterdiklerini tespit etmişlerdir.

2.2. Bitki Uçucu Yağların Gıda ve İnsan Patojeni Bakteriyel Hastalık Etmenlerine Karşı Antibakteriyel Etkinlikleri Üzerine Yapılan Çalışmalar

AKTUĞ ve KARAPINAR (1986), yaptıkları çalışmada kekik (*T. vulgaris*) bitkisinden elde edilen uçucu yağın çalışmada kullanılan üç insan patojeni bakteriyel etmenlerde *Salmonella typhurimum*, *Staphylococcus aureus* ve *Vibrio parahaemolyticus*'a karşı oldukça yüksek etki gösterdiğini bildirmişlerdir.

SIVROPOULOU ve ark. (1996), üç farklı *Origanum* bitki türüne ait uçucu yağın kimyasal bileşenlerine ve antibakteriyel etkinliğine baktıkları çalışmalarında bu yağların yüksek düzeyde carvacrol, thymol, γ -terpinene ve *p*-cymene içerdiğini, üç farklı bitki uçucu yağının test edilen bakterilere yüksek düzeyde antibakteriyel etki gösterdiğini, ana bileşenler içerisinde carvacrol ve thymol'un en yüksek düzeyde antimikrobiyal etkiye sahip olduğu, γ -terpinene ve *p*-cymene'nin antibakteriyel etkiye sahip olmadığını bildirmişlerdir.

ALIGIANNIS ve ark. (2001), Yunanistan'da yetişen iki farklı *Origanum* (*Origanum scabrum* ve *Origaum microphyllum*) bitki türünden elde edilen uçucu yağın kimyasal bileşeninin carvacrol, terpinen-4-ol, linalool, sabinene, α -terpinene ve γ -terpinene

isimli kimyasal bileşenlerden oluştuğunu, bu yağ ve bileşenlerinin test edilen Gram-negatif ve Gram-pozitif bakteriyel ve patojenik fungal hastalık etmenlerine karşı antimikrobiyal etkinliğe sahip olduğunu bildirmişlerdir.

EZZEDDINE ve ark. (2001), *Origanum majorana* L. isimli bitkiden elde ettikleri uçucu yağların antibakteriyel etkinliklerini 10 farklı gıdalarda bozulmalara neden olan bakteriyel türe karşı test etmiş olup sonuçta bitki uçucu yağının test edilen tüm bakteriyel etmenlere karşı antibakteriyel etkiye sahip olduğunu, test edilen bakteriler içerisinde en duyarlı bakteri türlerin *Escherichia coli*, *Streptococcus aureus*, *Shigella dysenteria* ve *Salmonella enteritidis* olduğunu bildirmişlerdir. Bakteriler içerisinde en az duyarlı türün *Pseudomonas aeruginosa* olduğu bildirilmiştir.

KHAN ve SAEED (2002), lavanta (*Lavandula stoechas* L.) bitkisinden elde ettikleri uçucu yağın kimyasal bileşenlerine ve gıdalarda bozulmalara neden olan farklı Gram-negatif ve Gram-pozitif bakteri türlerine karşı (*Bacillus megaterium*, *B. subtilis*, *B. thuringiensis*, *Sarcina lutea*, *Staphylococcus albus*, *S. aureus* ve *S. epidermidis*) antibakteriyel etkinliğini araştırdıkları çalışmalarında bitki uçucu yağın ana bileşenlerinden olan camphor, borneol, caryophyllene, cineole, alpha-terpineol, fenchol, linalyl acetate, citronellol, camphene ve *p*-pinene'nin diğer bileşenlerine oranla daha yüksek düzeyde antibakteriyel etkinlik gösterdiğini belirlemişlerdir.

GOREN ve ark. (2002), *Lavandula stoechas* ssp. *stoechas* bitkisinden elde ettikleri uçucu yağın kimyasal bileşenlerini ve çeşitli gıdalarda bozulmalara neden olan bakterilere karşı antibakteriyel özelliklerini araştırdıkları çalışmaları sonucunda, uçucu yağın ana bileşenlerinin pulegone (%40.4), menthol (%18.1), menthone (%12.6)'den oluştuğunu ve yağın denemelerde kullanılan bakterilerin hücre yapısında önemli düzeyde bozulmalara neden olarak antibakteriyel etkinlik gösterdiğini bildirmişlerdir.

CAVANAGH ve WILKINSON (2002), çeşitli lavanta türlerinden (*L. angustifolia*, *L. latifolia*, *L. stoechas* ve *L. x intermedia*) elde edilen bitki uçucu yağın ana bileşenlerinin ve bu bileşenlere bağlı olarak antibakteriyel, antifungal ve antimikrobiyal etkinliklerinin değişiklik gösterdiği, uçucu yağı elde etme metoduna, bitkinin yetiştiği bölgeye, bitkinin yaşına bağlı olarak uçucu yağın kimyasal bileşeninde farklılıklar görülebileceği ve buna bağlı olarak yağların antibakteriyel özelliklerinin farklılık göstereceğini belirtmişlerdir.

HOCINE ve ark. (2003), *Ammoides pusilla* isimli bitkiden elde edilen uçucu yağın ana bileşenlerinden biri olan γ -terpinene'nin test edilen insan patojeni, bakteriyel ve fungal hastalık etmenlerine (*Serratia marcescens*, *Salmonella enteritidis*, *Escherichia*

coli, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsilla pneumontae*, *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*, *Pseudomonas syringae* pv. *morsprunorum*, *Aspergillus niger*, *Candida albicans*) karşı antimikrobiyal etkinlikten sorumlu bileşenin olduğunu bildirmiştir.

ALMA ve ark. (2003), Türkiye’den temin ettikleri *Origanum syriacum* L. uçucu yağının kimyasal bileşenlerini belirledikleri çalışmalarında uçucu yağın ana bileşenlerinin %49.02 monoterpenes, %36.60 oxygenated monoterpenes ve %12.59 sesquiterpene’lerden oluştuğunu, en önemli ana bileşiklerin γ -terpinene, carvacrol, *p*-cymene ve β -caryophyllene olduğunu bildirmişlerdir. Uçucu yağın aynı zamanda doğal bir antioksidant potansiyele sahip olduğunu ve test edildiği 16 mikroorganizmadan 13 tanesine karşı antimikrobiyal etkinlik gösterdiğini bildirmişlerdir.

RASOOLİ ve ark. (2003), *Artemisia annua* isimli bitki uçucu yağının ana bileşenlerinin artemisia ketone (%24.2), α -pinene (%12.1), 1,8-cineole (%9.8), camphor (%8.4), α -selinene (%7.5) ve borneol (%6.0) olarak belirledikleri çalışmalarında, bitki uçucu yağın farklı bakteriyel, fungal ve maya hastalık etmenlerine karşı (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumonia*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Candida albicans* ve *Saccharomyces cerevisiae*) antibakteriyel etkiye sahip olduğunu bildirmişlerdir. Yağın antimikrobiyal etkinliğinin bünyesinde bulundurdıkları yüksek düzeydeki monoterpenlere (artemisia ketone (%24.2), α -pinene (%12.1), 1,8-cineole (%9.8), camphor (%8.4), α -selinene (%7.5) ve borneol (6.0%)) bağlı olduklarını bildirmişlerdir.

DADALIOGLU ve EVRENDİLEK (2004), oregano (*Origanum minutiflorum*), lavanta (*Lavandula angustifolia*), rezene (*Foeniculum vulgare*) ve defne bitkilerinden elde ettikleri uçucu yağların gıdalarda bozulmalara neden olan *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium*, ve *Staphylococcus aureus* üzerine olan antibakteriyel etkinliğini araştırdıkları çalışmalarında kullanılan tüm yağların değişen konsantrasyonlarda antibakteriyel etkinliğe sahip olduklarını belirlemişlerdir. Yaptıkları GC/MS analizleri sonucunda çalışmada kullanılan origanum, defne lavanta, rezene uçucu yağlarının ana bileşenlerinin sırasıyla carvacrol (%68.23), 1,8-cineole (%60.72), fenchone (%55.79), ve *trans*-anethole (%85.63) olduğu belirlenmiştir.

PARK ve ark. (2004), yaptıkları çalışmalarda rezene (*Foeniculum vulgare*) uçucu yağının ve ana bileşenlerinin antibakteriyel etkinliğini gıda patojenleri üzerinde test etmişlerdir. GC-MS analizleri sonucunda rezene bitkisinin ana bileşeninin *trans*-

anethole (%77.7) olduğunu bu bileşeni sırasıyla limonene, estragole ve fenchone'nin izlediğini, gerek uçucu yağın kendisinin gerekse ana bileşeni olan *trans*-anethole'ün benzer konsantrasyonda antibakteriyel etkinlik göstermiş olması sonucunda, rezene uçucu yağının antibakteriyel etkinliğinden *trans*-anethole'ün sorumlu olduğunu belirtmişlerdir.

TEPE ve ark. (2004), yapmış oldukları çalışmada *Origanum syriacum* L. var. *bevanii* uçucu yağının ve ekstraktlarının antioksidant ve antimikrobiyal özellikleri *invivo* da incelenmiş, elde edilen sonuçlara göre origanum uçucu yağının yapısında bulunan fenoliklerin yüksek düzeyde antioksidant potansiyele sahip olduğunu, gerek bitki uçucu yağının gerekse ana bileşeni olan carvacrol'ün çalışmada kullanılan tüm gıdalarda bozulmalara neden olan, bakteri, fungus ve maya etmenlerine karşı oldukça yüksek düzeyde antimikrobiyal etkinlik gösterdiğini bildirmişlerdir.

SARTORATTO ve ark. (2004), Brezilya'da yetişen farklı tıbbi bitkilerden (*Mentha piperita*, *M. spicata*, *Thymus vulgaris*, *Origanum vulgare*, *O. applii*, *Aloysia triphylla*, *Ocimum gratissimum*, ve *O. basiilicum*) elde edilen bitki uçucu yağların kimyasal bileşenleri ile gıda ve insan patojeni bakteriyel ve fungal hastalık etmenlerine karşı antimikrobiyal etkinliklerini araştırdıkları çalışmalarında yağların büyük bir çoğunluğunun bakteriyel etmenlere karşı etkili olduğunu, yağlar içerisinde sadece *A. tryphila* ve *M. piperita* bitki uçucu yağların *Candida albicans*'a karşı antimikrobiyal etkinlik gösterdiğini tespit etmişlerdir.

BAYDAR ve ark. (2004), Türkiye'nin çeşitli bölgelerinden temin ettikleri dört *Lamiaceae* familyasına bağlı bitki türünün (*Origanum minutiflorum*, *Origanum onites*, *Thymbra spicata* ve *Satureja cuneifolia*) kimyasal bileşenlerine ve gıdalarda bozulmalara neden olan bakteriyel etmenlere karşı (*Aeromonas hydrophila*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *B. brevis*, *B. cereus*, *B. subtilis*, *Corynebacterium xerosis*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Listeria monocytogenes*, *Micrococcus luteus*, *Mycobacterium smegmatis*, *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus aureus* ve *Yersinia enterocolitica*) antibakteriyel etkinliğini araştırdıkları çalışmalarında, dört bitki türünün ana kimyasal bileşeninin değişen oranlarda carvacrol (*O. onites*'te %86.9, *O. minutiflorum*'da %84.9, *T. spicata*'da %75.5 ve *S. cuneifolia*'da %53.3) olduğunu tespit etmişlerdir. Yağların tümünün 1/100 sulandırmada dahi test edilen bakterilere karşı antibakteriyel etkiye sahip olduğu, yağlar içerisinde en yüksek antibakteriyel etkinliği *T. spicata* uçucu yağının gösterdiğini bildirmişlerdir.

BOUZOUITA ve ark. (2005), Tunus'ta yetişen *Lavandula stoechas* L.'in kimyasal bileşenlerine ve gıda patojenlerine karşı olan antibakteriyel ve antifungal etkinliklerini araştırdıkları çalışmalarında bitki uçucu yağın ana bileşeninin fenchone (%68.2) ve camphor (%11.2) olduğunu uçucu yağın çalışmada kullanılan altı bakteri ve iki fungal etmene karşı test edildiğinde antibakteriyel ve antifungal etkiye sahip olduğunu, patojenler içerisinde uçucu yağa karşı en duyarlı olan bakteri türünün *Staphylococcus aureus* olduğunu tespit etmişlerdir.

LOPEZ ve ark. (2005), altı farklı bitkiden elde edilen bitki uçucu yağların antifungal ve antibakteriyel özelliklerini gıdalarda bozulmalara neden olan bakteriyel ve fungal etmenlere karşı araştırmışlardır. Sonuçta fungusların bakteriyel etmenlere oranla test edilen uçucu yağlara karşı daha duyarlı olduğunu, bakteriler arasında Gram-pozitif bakterilerin Gram- negatif bakterilere oranla test edilen uçucu yağlara daha duyarlı oldukları belirtmişlerdir.

AZAZ ve ark. (2005), farklı *Satureja* türlerinden (*Satureja hortensis*, *Satureja macrantha*, *Satureja cuneifolia*, *Satureja thymbra* ve *Satureja aintabensis*) elde ettikleri uçucu yağların kimyasal bileşenleri ve antimikrobiyal etkinliklerini araştırdıkları çalışmalarında bu yağların ana bileşeninin carvacrol, thymol, p-cymene'den oluştuğunu bildirmişlerdir. Bitki uçucu yağların ve bu uçucu yağlara ait ana bileşenlerin *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter aerogenes*, *Candida albicans*, *Penicillium clavigerum*, *Mucor hiemalis* ve *Absidia glauca* gibi gıda patojenlerine karşı antimikrobiyal ve antibakteriyel etkinlik gösterdiğini tespit etmişlerdir.

FALEIRO ve ark. (2005), *Thymbra capitata* ve *Origanum vulgare*'den elde edilen uçucu yağın ana bileşenlerinin antibakteriyel ve antioksidant etkilerinin belirlendiği çalışmalarında *Thymbra capitata*'nın ana bileşeninin carvacrol (%79), *Origanum vulgare*'nin ise thymol (%33), γ -terpinene (%26), ve p-cymene (%11) olduğunu belirlemişlerdir. *Thymbra capitata*'nın *Origanum vulgare* uçucu yağına oranla daha yüksek düzeyde antibakteriyel etkinlik gösterdiğini, *Thymbra capitata* uçucu yağının ana bileşeni olan carvacrol'un minimum engelleme konsantrasyonunun birbirine yakın olması ile bu yağın antibakteriyel etkinliğinden sorumlu olan bileşenin carvacrol olduğunu, *Thymbra capitata* uçucu yağının *Origanum vulgare*'ye oranla daha yüksek antioksidant aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir.

GRIERSON ve AFOLAYAN (2005), Güney Afrika'da insanlar tarafından geleneksel olarak kullanılan *Salvia namaensis* bitki uçucu yağ ve ekstraktının Gram-

pozitif ve Gram-negatif bakteriyel hastalık etmenlerine karşı test ettikleri çalışmalarında bitki ekstraktlarının Gram-pozitif bakterilere oranla Gram-negatif bakterilerin daha az duyarlı olduğunu bildirmişlerdir. Yapmış oldukları çalışmada bitki uçucu yağının ana bileşeninin camphor ve 1,8-cineole olduğunu, uçucu yağın bitki ekstraktına oranla daha yüksek düzeyde antibakteriyel etkinlik gösterdiğini belirlemişlerdir.

KORDALI ve ark. (2005), farklı *Artemisia* türlerinden elde ettikleri uçucu yağların kimyasal bileşenlerini ve antimikrobiyal etkinliklerini belirledikleri çalışmalarında bu yağların ana bileşenlerinin (Z)-anethole (%81.0), (Z)- β -ocimene (%6.5), (E)- β -ocimene (%3.1), limonene (%3.1), ve methyleugenol (%11.8) olduğunu belirlemişlerdir. Yağlar içerisinde en zayıf etkiyi *A. dracunculus* bitki yağının gösterdiğini, bu yağların antifungal etkinliğinin yanısıra gıdalarda bozulmalara neden olan bakteriyel etmenlere karşı antibakteriyel etkiyede sahip olduğunu bulmuşlardır.

SANTOYO ve ark. (2005), biberiye (*Rosmarinus officinalis* L.) bitkisinden elde ettikleri bitki uçucu yağın kimyasal bileşenlerini ve antimikrobiyal etkinliğini araştırdıkları çalışmalarında bitki uçucu yağın yüksek düzeyde 1,8-cineole, camphor, verbenone ve borneol içerdiğini, uçucu yağın Gram-pozitif ve Gram-negatif insan patojeni bakterilere, maya ve funguslara karşı değişen oranlarda antimikrobiyal etkinlik gösterdiğini, bakteriler içerisinde en duyarlı türün Gram-pozitif *Staphylococcus aureus* olduğunu belirlemişlerdir. Uçucu yağın ana bileşenlerinden olan α -pinene, 1,8-cineole, camphor, verbenone ve borneol gibi bileşenler test edilen tüm mikroorganizmalara karşı değişen oranlarda antimikrobiyal etkinlik gösterdiğini bildirmişlerdir.

BOZIN ve ark. (2006), üç farklı bitkiden (*Ocimum basilicum* L., *Origanum vulgare* L., ve *Thymus vulgaris* L.) elde ettikleri bitki uçucu yağların kimyasal bileşenlerini ve uçucu yağların antioyidant ve antimikrobiyal özelliklerini araştırdıkları çalışmalarında yağlar içerisinde *Thymus vulgaris* L.'in uçucu yağının kullanılan gıdalarda bozulmalara neden olan 13 bakteriyel etmene karşı yüksek düzeyde antibakteriyel özellik gösterdiğini tespit etmişlerdir.

CHORIANOPOULOS ve ark. (2006), yapmış oldukları çalışmalarda farklı *Satureja* türlerinde uçucu yağ bileşenlerinin yetiştirme periyoduna bağlı olarak değişiklik gösterdiğini, uçucu yağın gerek kompozisyon zenginliğinin gerekse antimikrobiyal etkinliğinin en yüksek olduğu dönemin bitkinin çiçeklenme periyodunda olduğunu, bu dönemlerde elde edilen uçucu yağın yüksek düzeyde antibakteriyel etkinlik gösterdiğini belirtmişlerdir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

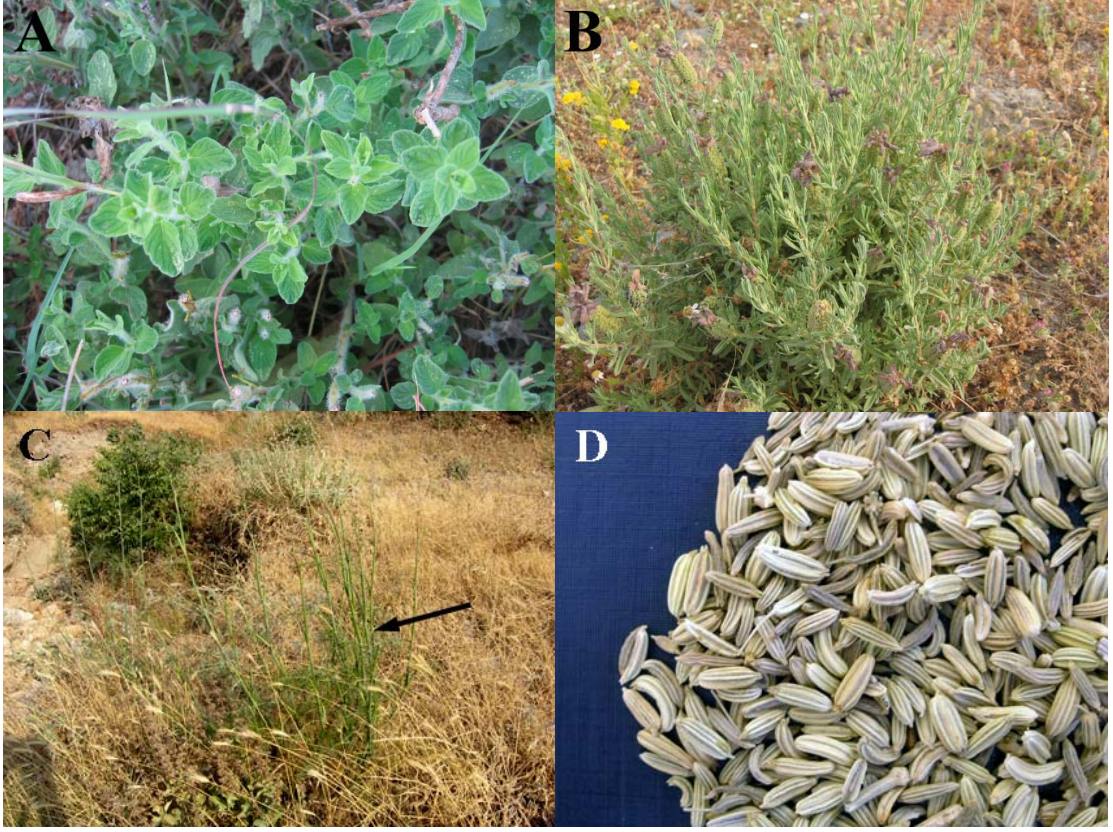
3.1. MATERYAL

3.1.1. Bitki Materyali

Hatay ili Samandağ ilçesine bağlı köylerde doğal olarak yetişen ve yöre halkı tarafından bazı hastalıkların tedavisinde kullanılan bitkilerden *Origanum syriacum* L. var. *bevanni*, *Lavandula stoechas* L. var. *stoechas* ve *Foeniculum vulgare* Mill. (**Şekil 3.1**) buldukları doğal ortamlardan değişik zamanlarda yapılan çıkışlarda toplanmıştır (**Çizelge 3.1**). Toplanan bitkilerden origanum ve lavanta bitkilerinin yaprak ve sürgünlerinden oluşan yeşil kısımları, rezene bitkisinin ise tohumları toplanarak gölgede hava sirkülasyonunda kurutulmuştur.

Çizelge 3.1. Denemede uçucu yağları kullanılan bitkilerin bilimsel adı, yöresel adı, toplandığı yer ve toplanma tarihleri

Bilimsel adı	Yöresel adı	Toplandığı yer	Toplandığı tarih
<i>Origanum syriacum</i> L. var. <i>bevanni</i>	Halil İbrahim Zahteri, Suriye kekiği, origanum	Kapısuyu/HATAY	Nisan-Haziran, 2005
<i>Foeniculum vulgare</i> Mill.	Rezene, Şumra	Narlıca/HATAY	Temmuz- Ağustos, 2005
<i>Lavandula stoechas</i> L. var. <i>stoechas</i>	Karabaş lavanta, lavanta	Samandağ/HATAY	Nisan-Haziran, 2005



Şekil 3.1. Çalışmalarda uçucu yağları kullanılan tıbbi bitkilerden, (A), origanum (*O. syriacum* var. *bevanni*); (B), lavanta (*L. stoechas* var. *stoechas*), (C), rezene (*F. vulgare*, okla gösterilen) bitkilerinin doğal olarak yetiştiği alanlarındaki görünüşleri. (D) Rezene bitkisinden toplanan ve yağlarının çıkartıldığı tohumları.

3.1.2. Çalışmalarda Kullanılan Besi Yerleri ve İçerikleri

Çalışmada kullanılan tüm ortamlar 121°C’de 15 dk. otoklav edilmiştir. Denemelerde hazır ticari olarak satılan King’s B Agar (KB), Luria Bertani Broth (LB), Nutrient Agar (NA) besi yerleri kullanılmış olup bu besi yerlerinin içerikleri Ek-1 de verilmiştir.

3.2. YÖNTEM

3.2.1. Bakteriyel Etmenlerinin İzolasyonu ve Muhafazası

Çalışmalarda kullanılan *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*, *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*, *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria*, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* ve *Agrobacterium tumefaciens* bakteri türlerinin virüent ırkları Luria Broth (LB), Nutrient Agar (NA) veya King's B (KB) besi yerinde 25°C'de rutin bir şekilde geliştirilmiştir. Gerek agar disk difüzyon gerekse mikro seyreltme yöntemlerinde kullanılan bakteri kültürleri ise sıvı besi yerinde (LB) orbital çalkalamalı inkübatörlerde 200 rpm'de 24 saat boyunca geliştirilmiştir. Bakteri süspansiyonların konsantrasyonları spektrofotometre yardımıyla (Perkin Emler, Lambda 25, USA) 620 nm dalga boyunda ölçülerek belirlenmiş ve gerekli sulandırmalar yapılarak çalışmalarda kullanılmıştır.

Çalışmalarda kullanılan farklı bakteriyel hastalık etmenlerinden *Agrobacterium tumefaciens* ve *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümünden Doç.Dr. Yeşim AYSAN tarafından; *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* ise Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsünden Dr. Ömür BAYSAL tarafından temin edilmiştir. Diğer bakteriyel etmenlerden *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* ve *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* Hatay ilinin Samandağ ilçesindeki örtü altı sebze yetiştiriciliği yapılan alanlarda yetiştirilen ve tipik hastalık belirtisi gösteren domates bitkilerinden izole edilmiştir.

Hastalık belirtisi gösteren bitki materyalleri laboratuara getirilerek önce çeşme suyu altında 15 dakika süreyle yıkanmış ve daha sonra saf suyla durulanmıştır. Hastalıklı ve sağlıklı olan kısımlardan alınan bitki dokuları önce %1 lik NaOCl solüsyonunda 3 dak. yüzey sterilizasyonuna maruz bırakılmış daha sonra, 3 kez steril saf su içerisinde 2-3 dak. durulanmış ve steril filtre kağıtları arasında kurutulmuştur. Kuruyan parçacıklar daha sonra hedeflenen bakteriyel etmen için uygun bakteri besi yerine ekilmiştir.

Hedeflenen etmenlerden *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* King B besi (KB) yerine, *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* ise Nutrient Agar (NA) besi yerine ekimleri yapılmıştır. Bu petriler daha sonra 26±1 °C sıcaklıktaki inkübatörde 3 gün inkubasyona bırakılmış ve gelişen bakteri kolonilerinden saflaştırmalar yapılmıştır. Bakteriyel hastalık etmenlerin kesin tür teşhisleri Atatürk Üniversitesi, Merkez

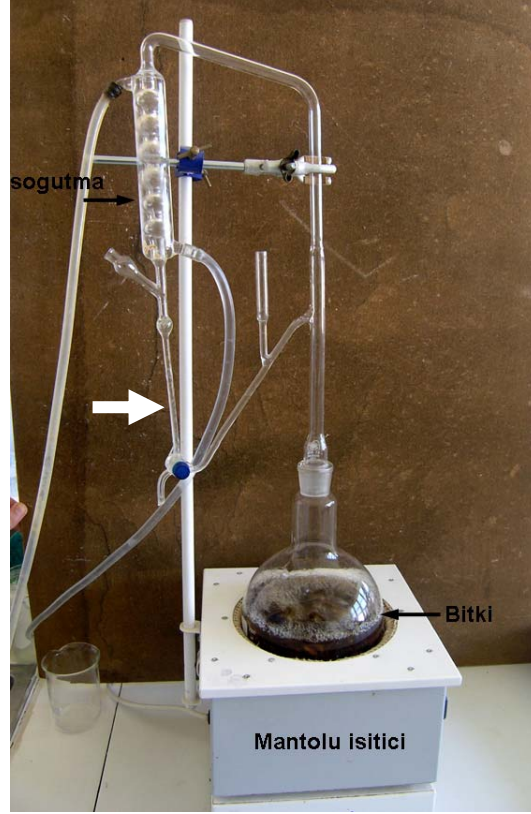
Araştırma laboratuvarlarında bulunan Microbial Identification System (MIS) ile teyit edilmiştir.

Çalışmada kullanılan tüm bakteri izolatlarının patojeniteleri sağlıklı 2 aylık domates bitkilerinin (F144) üzerinde yapılmıştır. Hastalık etmenleri 1 günlük Luria Broth (LB) (MILLER, 1972) sıvı besi yerinde geliştirildikten sonra, spektrofotometre ile konsantrasyonları 10^8 hücre/ml ayarlanmıştır. Yaprak leke hastalık etmenleri (*Pseudomonas syringae* pv. *tomato* ve *Xanthomonas axanopodis* pv. *vesicatoria*) nin patojenisiteleri domates bitkilerinin yapraklarına püskürtülerek yapılmıştır. *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* fidelerin gövdesinde açılan küçük yaralar üzerine 100 µl bakteri süspansiyonu damlatılmıştır. *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* ise fidelerin gövdesine açılan yaralardan injekte edilmiştir. *Agrobacterium tumefaciens* ise fidelerin kök boğazında açılan yaradan gövdeye injekte edilmiştir.

İnokulasyonlardan sonra tipik hastalık belirtisi gösteren bitkilerden tekrar patojen izolasyonları yapılarak orijinal izolatlara benzer morfolojik karakterlerde izolatlar elde edilmişlerdir. Rutin kullanımlar için geliştirilen kültürler 5 °C'de petri kaplarında saklanmıştır. Uzun süreli saklamalar için bakteri kültürleri gliserol içerisinde (son konsantrasyonu %20 olacak şekilde) -80 °C'de muhafaza edilmiştir.

3.2.2. Bitki Uçucu Yağların Elde Edilmesi

Çalışmada kullanılan bitkilerin toplanması için Hatay ilinin değişik bölgelerine Nisan-Ağustos 2005 tarihlerinde periyodik olarak çıkışlar yapılmış ve *O. syriacum* var. *bevanni* (organum), *L. stoechas* var. *stoechas* (lavanta) bitkilerinin yaprakları ile *F. vulgare* (rezene) bitkisinin tohumları toplanmıştır. Toplanan bitkilerin yaprak, sürgünlerinden oluşan yeşil aksamaları ile tohumlar gölgede hava sirkülasyonunda kurutulmuştur. Bitkilerin uçucu yağları Clevenger tipi (İldam, Ankara, Türkiye) yağ çıkartma aletinde (Şekil 3.2) önceden bildirildiği şekilde buhar distilasyonu ile elde edilmiştir (COUNCIL OF EUROPEAN PHARMACOPOEIA, 1997). Ekstraksiyon sonucu elde edilen uçucu yağlar denemelerde kullanılıncaya kadar +4 °C'de içerisinde anhydrous sodium sulphate bulunan koyu renkli cam şişelerde korunmuştur.



Şekil 3.2. Uçucu yağların çıkartılmasında kullanılan Clevenger tipi (İldam, Ankara, Türkiye) yağ çıkartma aleti ve mantolu ısıtıcısının genel görünümü. Ok ile gösterilen yer bitki uçucu yağının toplandığı kısımdır. Alttaki musluk açılarak yağlar tüplere alınmıştır

3.2.3 Uçucu Yağların Kimyasal Bileşenlerin Belirlenmesi:

Uçucu yağlarda bulunan bileşikler ve miktarlarının tayini gaz kromatografi (GS) (Hewlett Packard 6890) cihazı ve bu cihaza entegre olmuş kütle spektroskopisi (HP 5973 Mass Selective (MS)) ile önceden bildirildiği şekilde yapılmıştır (SKOULA ve ark., 1996; DAFERERA ve ark., 2000). GS-MS cihazı üzerinde %5-Phenyl Methyl Siloxane (HP-5) capillary kolon (30 m x 0.25 mm x 0.25 μ m film kalınlığında) bulunmaktadır. Denemelerde 1.3 ml/dak. akış hızına sahip helyum gazı taşıyıcı gaz olarak kullanılmıştır. Fırın sıcaklığı 45 °C de 2 dak. tutulduktan sonra 2 °C/dak artışla 130 °C'ye, 3 °C/dak artışla 170 °C'ye ve 10 °C/dak artışla 220 °C'ye ve en son bu sıcaklıkta 5 dak. bekletilecek şekilde programlanmıştır. İyonizasyon voltajı 70 eV ve iç sıcaklık 250 °C olarak ayarlanmıştır. Yağların bileşiminde bulunan bileşikler % olarak ve kolonda alıkonma zamanları (*Retention time*, RT) MS üzerindeki Wiley 2.75 kütüphanesi yardımıyla belirlenmiştir (ADAMS, 1995).

3.2.4 Bitki Uçucu Yağ ve Önemli Bileşenlerinin Antibakteriyel Etkinliklerinin Belirlenmesi

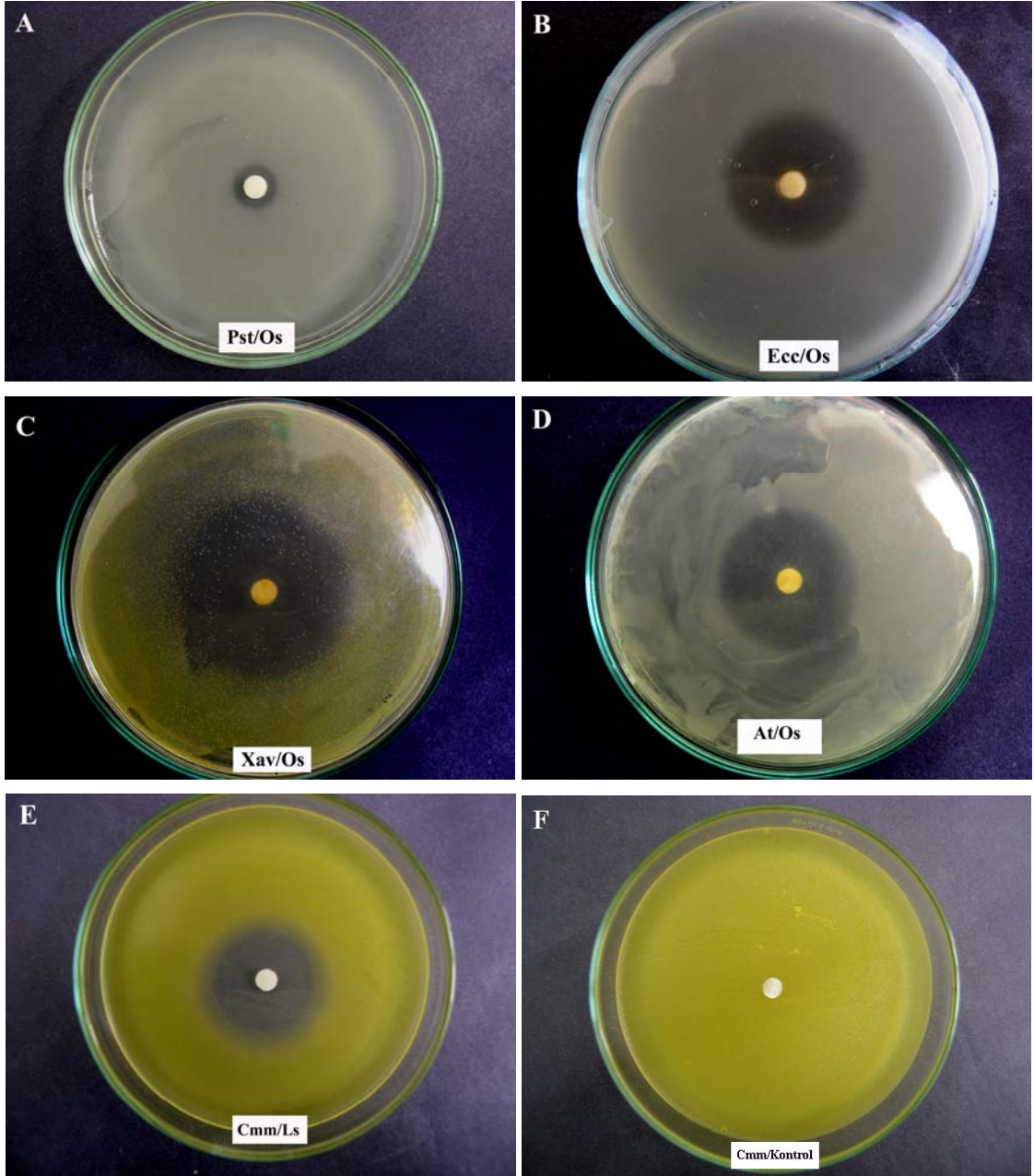
Uçucu yağlar ve ana bileşenlerinin *in vitro* koşullarda test edilen hastalık etmenleri üzerine olan antibakteriyel potansiyelleri öncelikle agar disk difüzyon, daha sonrada minimum engellemeyi sağlayan konsantrasyonlarının belirlenmesi mikro seyreltme yöntemleri ile araştırılmıştır (JANSSEN ve ark., 1987). Agar disk difüzyon yöntemi birden fazla uçucu yağlarla yapılan çalışmalarda gerek hızlı tarama yapılması açısından gerekse müteakibinde yapılacak ve minimum patojen gelişimini sağlayan dozlar hakkında ön bilgi vermesi amacıyla bu tip araştırmalarda yaygın bir şekilde kullanılan bir yöntemdir.

Tüm çalışmalarda orbital inkübatörlü çalkalayıcı üzerinde sıvı LB kültür içerisinde 25 °C de geliştirilen 24 saatlik bakteri kültürleri kullanılmıştır. Sıvı kültürdeki bakteri hücreleri soğutmalı santrifüj ile çöktürülerek pelet haline getirilmiştir. Üst sıvı besi yeri (supernatant) atıldıktan sonra pelet steril 10 mM MgCl solusyonu ile sulandırılıp, spektrofotometre yardımı ile son konsantrasyonu 10^8 hücre/ml (agar disk difüzyon çalışmalarında) veya 10^4 hücre/ml (mikro seyreltme yöntemi ile yapılan çalışmalarda) olacak şekilde süspansiyon haline getirilmiştir.

3.2.4.1. Bitki Uçucu Yağların Antibakteriyel Etkinliklerinin Belirlenmesi

3.2.4.1.1. Agar Disk Difüzyon Yöntemi

Agar disk difüzyon yöntemi test edilen uçucu yağın hızlı bir şekilde etkinliğinin belirlendiği bir yöntem olup (HAMMER ve ark., 1999), müteakibinde ortaya çıkan engellenme bölgelerin çapına göre yağın etkinliği belirlenmiş, buna bağlı olarak minimum engellemeyi yapacak yağ konsantrasyonları hakkında ön fikir elde edilmiştir. Bu yöntemde, 24 saatlik inkübasyon sonucu elde edilen bakteri süspansiyonundan 0.1 ml bakteri kültürü alınmış, 9 cm çapında 20 ml King B besi yeri içeren petri yüzeylerine yayılarak ortam yüzeyinde kurumaya bırakılmıştır. Daha sonra bu petrilerin tam ortasına 6 mm çapında steril filtre kağıtları (disk) yerleştirilmiş olup, bu filtre kağıdına 10 µl bitki uçucu yağı otomatik ayarlı pipet yardımıyla damlatılmıştır (Şekil 3.3). Damlatılan yağın etrafa taşmaması için diskler 4 kat halinde kullanılmıştır.

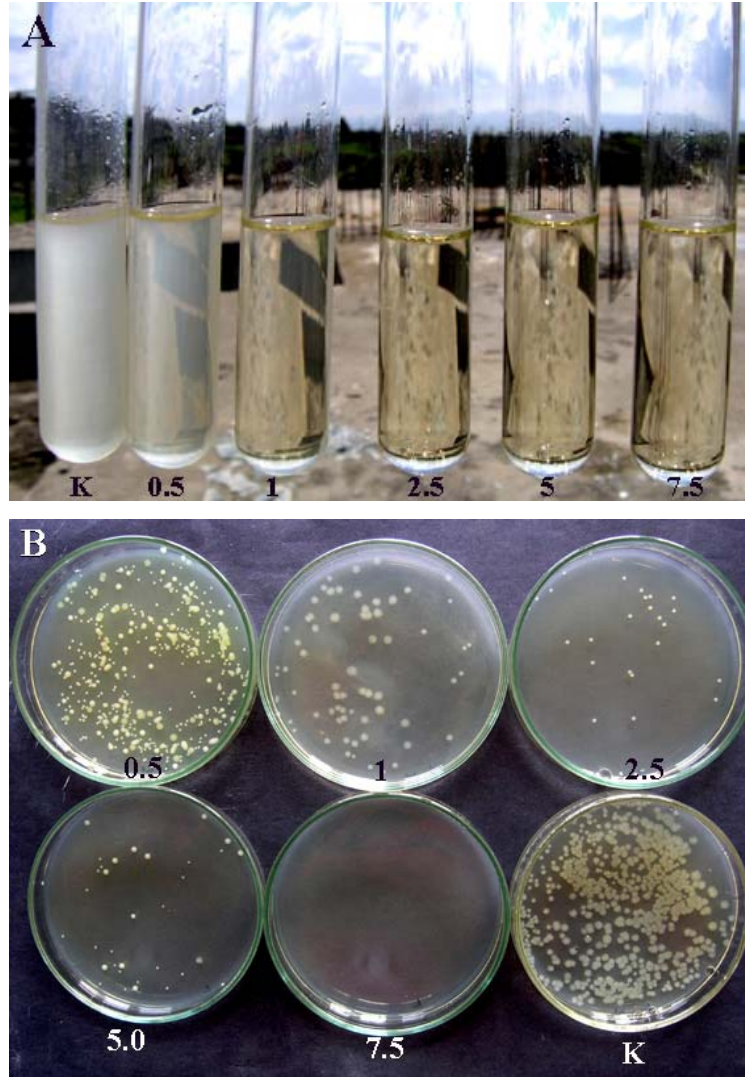


Şekil 3.3. Agar disk difüzyon tekniği ile uçucu yağların antibakteriyel etkinliğinin belirlenmesi. **A, B, C** ve **D** origanum uçucu yağının *Pst*, *Ecc*, *Xav* ve *At*, **E** ise rezene uçucu yağının *Cmm* gibi bakteriyel etmenleri engellediği petrilerde diskin etrafında oluşturduğu engelleme alanlarını gösterir. **F**, *Cmm* ile inokule edilmiş yağ içermeyen disk'in bulunduğu petri (kontrol).

Her petriye 1 bitki uçucu yağı konmuş ve uygulama (her patojen ve yağ için) 5 farklı petride tekrar edilmiştir. Petriler daha sonra parafilm ile kaplanarak 25 °C’ de 4 gün inkübasyona bırakılmış, günlük ölçümler alınmıştır. Uçucu yağların etkinliği petrilere ortaya çıkan inhibisyon (engelleme) bölgelerinin ölçülmesiyle yapılmıştır. Değerlendirmeler engelleme alanının genişliğinin enine ve boyuna ölçülmesiyle yapılmıştır. Deneme farklı zamanlarda kullanılacak materyaller ile yeniden hazırlanmak suretiyle tekrar edilmiştir.

3.2.4.1.2. Mikro Seyreltme Yöntemi

Test edilen bitki uçucu yağların minimum engelleme konsantrasyonları mikro seyreltme yöntemi ile 5 ml kapasiteli steril cam tüpler içerisinde belirlenmiştir (**Şekil 3.4A**). Denemelerde kullanılan farklı uçucu yağ konsantrasyonları, içerisinde 4,5 ml steril LB yeri bulunan cam tüplere konulduktan sonra üzerine 500 µl daha önceden tarif edildiği şekilde hazırlanan (son konsantrasyonu 10^4 hücre/ml olacak şekilde) 24 saatlik bakteri süspansiyonu ilave edilmiştir. Sonuçta cam tüplerde uçucu yağların 0.1, 0.5, 1.0, 2.5, 5.0, 7.5, 10, 15.0, 20.0, 25.0, 30.0, 40.0, 50.0 60.0, 80.0, 100.0 ve 120.0 µL/mL olacak şekilde konsantrasyonlar elde edilmiştir. Bazı yağlarda 0.25 µl/ml gibi ara dozlara da yer verilmiştir. Farklı uçucu yağ konsantrasyonları bulunduran eppendorf tüpleri parafilm ile kaplandıktan sonra inkübatörlü orbital çalkalayıcıda 25 °C’de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. Uçucu yağın sıvı besi yerinde homojen bir halde dağılması için LB besi yeri içine yayıcı-çözücü madde olarak %0.5 oranında dimethyl sulfoxide (DMSO) ilave edilmiştir. Aynı oranda DMSO kontrol olarak kullanılan ve içerisinde sadece bakteri kültürü bulunan tüplere de ilave edilmiştir. İnkübasyondan 48 saat sonra her tüpten 0.1 ml örnek alınarak besi yeri yüzeyine yayılmış ve tekrar 25 °C’de 48 saat inkübasyona bırakıldıktan sonra yüzeyde gelişen bakteri kolonileri sayılarak uçucu yağlarının etkinliği ortaya konulmuştur (**Şekil 3.4B**).



Şekil 3.4. Mikro sulandırma tekniği ile uçucu yağların antibakteriyel etkinliğinin belirlenmesi. (A), Farklı konstrasyonlarda origanum uçucu yağının *Pst* gelişimini engellediği cam tüplerdeki görünümü. (B) Bu tüplerden 48 saat sonra alınan örneklerden gelişen bakteri kolonileri.

3.2.4.2. Bitki Uçucu Yağlarının Ana Bileşenlerinin Antibakteriyel Etkinliklerinin Belirlenmesi

Bitki uçucu yağlarının kimyasal bileşenleri GC/MS ile belirlendikten sonra bu yağlar içerisinde en yüksek oranda bulunan kimyasal bileşenlerin antibakteriyel özellikleri tespit edilmiştir. Bu kapsamda rezene bitkisinin uçucu yağında en önemli ana bileşeni olarak belirlenen **trans-anethole**, lavanta uçucu yağının ana bileşenleri olarak **camphor**, origanum uçucu yağının ana bileşeni olarakta **carvacrol** bileşikleri seçilmiştir. Bu bileşenler ticari olarak kimyasal firmalardan temin edilmiş ve denemelerde kullanılmıştır. Ana bileşenlerin çalışmalarda kullanılan dozları bu bileşenlerin ilgili yağlar içerisinde bulunma oranlarına göre ayarlanmıştır. Ana bileşenlerinin antibakteriyel etkinlikleri o bileşenin söz konusu yağının patojeni tamamen engelleyen dozdaki bulunduğu oran (1x), iki (2x) ve 3 katı (3x) kadar olmak üzere 3 farklı konsantrasyonlarda araştırılmıştır. Ana bileşenlerin antibakteriyel etkinlikleri, uçucu yağların etkinliğinin belirlenmesinde olduğu gibi mikro seyreltme yöntemi kullanılarak (3.2.4.1.2) belirlenmiştir.

3.2.5. Deneme Deseni ve İstatistiksel Analizler

Tüm *in vitro* denemelerinde her petri 1 tekerrür ve her doz da 5 tekerrür olacak şekilde tesadüf parselleri deneme desenine göre kurulmuş olup, deneme 2 farklı zamanda tekrar edilmiştir. Elde edilen ölçüm değerleri (agar disk difüzyon testinde elde edilen engelleme bölgeleri [mm] ve mikro sulandırma yönteminde elde edilen bakteri koloni sayılarının logaritmik değerleri) % oranlarına çevrilmeden SPSS istatistik programı (SPSS Inc., versiyon 11.5.0) kullanılarak tek yönlü ANOVA ile varyans analizi yapılmış ve Duncan's çoklu karşılaştırma testi ($P \leq 0.01$) ile konsantrasyonlar arasındaki farklılıklar tespit edilmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. Bitki Uçucu Yağların Genel Özellikleri

Çalışmalarda elde edilen bitki uçucu yağlar Clevenger tipi alet yardımıyla buhar distilasyon yöntemi ile çıkartılmış (**Şekil 3.2**) ve denemelerde kullanılmıştır. Çalışmalarda kullanılan bitkilerin yağ verimleri ve çıkarılan yağların genel özellikleri **Çizelge 4.1** de verilmiştir. Bitkiler içinde en yüksek verim rezene tohumlarından elde edilmiş olup, bunu origanum ve lavanta bitkileri takip etmiştir.

Çizelge 4.1. Çalışmalarda Kullanılan Bitkilerden Elde Edilen Uçucu Yağlarının Genel Özellikleri

Bitki	Kullanılan bitki kısmı	Uçucu yağın rengi	Uçucu yağın % verimi ^a
Origanum	yaprak	Koyu turuncu	6.7 b
Lavanta	yaprak	Açık sarı	3,8 a
Rezene	tohum	Saydam beyaz	7,9 c

^a Kurutulmuş bitki materyalinden elde edilen toplam miktar (w/v). Yağ verimi her birinde 100 gr kuru bitki materyalinin kullanıldığı 3 farklı ekstraksiyon sonucu elde edilen miktarın ortalamasıdır. Sütun içerisinde yer alan ortalama değerlerin yanındaki farklı harfler yağ verimleri arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olmadığını gösterir (Duncan's Multiple Range Test, $P \leq 0.01$)

4.2. Uçucu Yağların Kimyasal Bileşenleri

Bitki uçucu yağların içerisinde tespit edilen kimyasal bileşenler ve % miktarları **Çizelge 4.2**'de verilmiştir. Sonuçlara bakıldığında bitki uçucu yağlarının türe özel kimyasal bileşenlere değişen oranlarda sahip olduğu görülmektedir. GC-MS analizleri sonucunda Origanum uçucu yağının 23, lavanta uçucu yağının 21 ve rezene uçucu yağının ise 17 farklı bileşenden oluştuğu belirlenmiştir (**Çizelge 4.2**). Ana bileşenler açısından bakıldığında origanum uçucu yağının en önemli ilk 3 ana bileşenlerinin carvacrol (%79.8), *p*-cymene (%8.2), γ -terpinene (%4.6); Lavanta uçucu yağının en önemli ilk 3 ana bileşenlerinin camphor (%20.2), 1,8-cineole (%20.0), α -thujone (%15.9); rezene uçucu yağının en önemli ilk 3 ana bileşenlerinin ise *trans*-anethole (%82.8) 4-allyl-anisole (%6.6), limonene (%5.8) olduğu görülmektedir.

Çizelge 4.2. Çalışmalarda kullanılan bitki uçucu yağların kimyasal kompozisyonu

Her ne kadar karabaş lavanta ile origanum bitkileri aynı familyaya (*Lamiaceae*) dahil olsa da yapılan GC-MS analizleri sonucunda her iki yağda bulunan ortak bileşene rastlanılmamıştır. Bununla birlikte farklı familyaya (*Apiaceae*) dahil olan rezene bitkisinden elde edilen uçucu yağ ile origanum uçucu yağında ortak 3 bileşenin (α -pipene, myrcene, γ -terpinene) bulunduğu belirlenmiştir.

Denemelerde kullanılan bitki uçucu yağların kimyasal bileşenleri daha önce farklı bölge ve ülkelerde yapılan çalışmalarda da belirlenmiştir (CAVANAGH ve WILKINSON, 2002; KHAN ve SAEED, 2002; MINIJA ve THOPPİL, 2002; ALMA ve ark., 2003; MIMICA-DUKIC ve ark., 2003; PARK ve ark., 2004; TEPE ve ark., 2004; DADALIOĞLU ve EVRENDİLEK, 2004; BOUZOUITA ve ark., 2005; SOYLU ve ark., 2006). Her ne kadar oranları farklı olsa da, gerek çalışmalarımızda gerekse farklı araştırmacıların yapmış olduğu çalışmalarda carvacrol, camphor, 1,8-cineole ve *trans*-anethole'ün, *Origanum*, lavanta ve rezene uçucu yağlarında yüksek düzeylerde bulunduğu konusunda benzerlik görülmüştür. Bu birlikteliğin yanı sıra elde edilen sonuçlar arasında bazı farklılıklarda göze çarpmaktadır. DADALIOĞLU ve EVRENDİLEK (2004) ve BOUZOUITA ve ark. (2005) çalışmalarda kullandıkları lavanta uçucu yağının ana bileşeninin bizim çalışmada bulduğumuz camphor yerine fenchone (%55.79, %68.29), GOREN ve ark (2002) ise pulegone (%40.4) olduğunu bildirmiştir.

Aynı türe ait olmakla birlikte uçucu yağlarda gerek verim gerekse kimyasal kompozisyonlarında farklılığın ortaya çıkabileceği diğer bitkilerle yapılan önceki çalışmalarda da bildirilmiştir. Söz konusu uçucu yağların elde edildiği bitkilerin yetiştiği alanlardaki iklim farklılığı, bölgenin coğrafik konumu, toprak yapısı, bitkinin yaşı, bitki materyalinin toplandığı dönem ve yağın çıkartılış metodu gibi bir çok faktörün benzer bitki türlerine ait yağların kimyasal kompozisyonlarında farklılığın ortaya çıkmasında rol oynayabileceği bildirilmiştir (DUDAI ve ark., 1992; CIMANGA ve ark., 2002). Nitekim *Origanum syriacum* bitkisinde çevre koşullarının çiçeklenme, yağ verimi ve kompozisyonu üzerine olan etkinliğinin araştırıldığı çalışmada, bitkinin çiçeklendiği dönemde, ışık şiddetinin yüksek olduğu veya kısa gün fotoperiyoduna sahip yüksek sıcaklık bölgelerde yetişen bitki yapraklarından elde edilen uçucu yağ veriminin ve yağ içindeki fenol bileşiklerinin oranının önemli düzeyde azaldığı bildirilmiştir (DUDAI ve ark., 1992).

4.3. Bitki Uçucu Yağ ve Önemli Bileşenlerinin Antibakteriyel Etkinlikleri

Bitki uçucu yağların antibakteriyel etkinliği 2 farklı yöntemle araştırılmıştır. Klasik yöntemlerden birisi olan agar disk difüzyon yöntemi ile uçucu yağların antibakteriyel potansiyelinin bulunup bulunmadığı ve varsa şiddetlerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Diğer yöntem olan mikro sulandırma yöntemi ile bitki uçucu yağların ve ana bileşenlerinin test edildiği bakteriyel etmeni engelleyen en düşük konsantrasyonunun (minimum inhibisyon konsantrasyonu) bulunması hedeflenmiştir.

4.3.1. Bitki Uçucu Yağların Antibakteriyel Etkinlikleri

4.3.1.1. Agar Disk Difüzyon Yöntemi

Agar disk difüzyon testinde 10 µl bitki uçucu yağının emdirildiği steril filtre kağıt diskler önceden bakteri süspansiyonu ile bulaştırılmış petri kaplarının ortasına yerleştirilip kapağı kapatılmış ve parafilm ile çevrilmiştir. Uygulama yapılan petri kapları 48, 72 ve 96 saat sonra olmak üzere inkübatörlerde inkübasyona bırakılmıştır. Filtre kâğıt disklerin etrafında oluşan engelleme bölgelerinin (**Şekil 3.3**) ölçülmesi ile uçucu yağların antibakteriyel etkinliği belirlenmiştir (**Çizelge 4.3**). Kontrol olarak steril su ve 2 farklı antibiyotik (tetracycline ve rifampicin 100 µg/ml) kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre, kullanılan yağlar içinde origanum uçucu yağı test edilen tüm patojenlere karşı en yüksek antibakteriyel etkinliğe sahip olan yağ olmuştur. Bunu sırasıyla lavanta ve rezene uçucu yağları takip etmiştir. Test edilen bakterilerden uçucu yağlara en duyarlı (engellenme bölgesi en büyük olduğu) etmen *Cmm* olurken, en dayanıklı (engellenme bölgesi en küçük olduğu) etmenin *Pst* olduğu belirlenmiştir. Yağlar açısından bakıldığında origanum uçucu yağı en yüksek etkiyi sırasıyla *Cmm*, *At*, *Xav*, *Ecc* ve *Pst*'a karşı; lavanta uçucu yağı en yüksek etkiyi sırasıyla *Cmm*, *At*, *Xav*, *Pst* ve *Ecc*'ya karşı; rezene uçucu yağı en yüksek etkiyi sırasıyla *Xav*, *Cmm*, *At*, *Ecc* ve *Pst*'ya karşı göstermiştir. Uçucu yağların antibakteriyel etkinliği 72 ve 96 saat sonraki gözlemlerde de incelenmiş olup, 48 saat sonraki etkinlikten önemli bir farklılığın olmadığı görülmüştür.

Söz konusu engellenme bölgeleri sıvı besi yerine ilave edilmiş olup, 48 saat sonra sıvı besi yerlerinde herhangi bir bakteriyel gelişme gözlenmemiştir. Bu durum uçucu

yağların antibakteriyel özelliğinin bakteriyostatik (geçici etkinlik) etkinlikten ziyade bakteriyosidal (kalıcı etkinlik) etkinliğinden kaynaklandığını göstermiştir.

Çizelge 4.3. Bitki Uçucu Yağlarının Domateste Sorun Bakteriyel Hastalık Etmenlerine Karşı Antibakteriyel Etkinliği^a

Uygulamalar	Bakteriyel etmenler ve gözlenen engellenme alanları (mm)				
	<i>Pst</i>	<i>Ecc</i>	<i>Xav</i>	<i>At</i>	<i>Cmm</i>
Origanum	9,3 aB	26,1 bC	29,8 bcC	31,5 cdD	35,6 dD
Lavanta	7,6 aAB	7,5 aA	16,2 bB	19,6 cB	23,7 dC
Rezene	6,5 aA	6,9 abA	10,9 dA	8,5 bcA	9,6 cdA
Tetracyclin (100µg/ml)	20,6 aD	41,3 bD	52,8 bD	50,7 cE	18,7 aBC
Rifampisin (100µg/ml)	15,8 aC	21,1 bB	49,7 dE	29,6 cCD	53,0 dE

^a Antibakteriyel etkinlik agar disk difüzyon yöntemi ile belirlenmiştir. 10 µl uçucu yağ emdirilmiş steril filtre kağıdı (6 mm) önceden bakteri süspansiyonu yayılmış petrilerin ortasına yerleştirilmiş ve 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. Filtre kağıdı etrafında ortaya çıkan engelleme bölgesinin çapı (kağıt disk dahil) ölçülmüştür. Elde edilen değerler 5 farklı petri kutusunda ölçülen engellenme bölgelerinin ortalamasıdır.

Aynı satır içinde yer alan ortalama değerlerin yanındaki benzer küçük harfler veya sütun içerisinde yer alan ortalama değerlerin yanındaki benzer büyük harfler uygulamalar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olmadığını gösterir (Duncan's Multiple Range Test, $P \leq 0.01$).

4.3.1.2. Mikro Sulandırma Yöntemi

Mikro sulandırma yöntemi ile bitki uçucu yağının test edildiği bakteriyel etmeni engelleyen en düşük konsantrasyonunun (minimum inhibisyon konsantrasyonu) belirlenmesi amaçlanmıştır. Farklı dozlarda uçucu yağ içeren bakteri süspansiyonları inkübatörlü orbital çalkalayıcıda 26 °C'de 48 saat inkübasyona bırakılmış ve buradan alınan 100 µl bakteri süspansiyonu yayıldıkları petri kabında 26 °C'de 48 saat tekrar inkübasyona bırakılarak yağların bakterilerin populasyon gelişimi üzerine olan antibakteriyel potansiyelleri belirlenmiştir (**Şekil 3.4**). Çalışmalarda elde edilen sonuçlar **Çizelge 4.4-4.8** de sunulmuştur.

Mikro sulandırma yönteminden elde edilen sonuçlar agar disk difüzyon testinde elde edilen sonuçları desteklemiştir. Agar disk difüzyon testinde en küçük engelleme bölgesi oluşturan uçucu yağın mikro sulandırma yönteminde engelleme konsantrasyonu en yüksek miktarda olduğu belirlenmiştir. Çizelgelerde de görülebileceği gibi uçucu yağların konsantrasyonlarının artmasıyla bakterilerin populasyon gelişimleri önemli

düzeylelerde azalmıştır. En fazla antibakteriyel etkiyi origanum bitkilerinden elde edilen yağlar göstermiş, bunu sırasıyla lavanta ve rezene bitkisinden elde edilen uçucu yağları izlemiştir. Uçucu yağların antibakteriyel etkinlikleri, patojen türlerine göre farklılık gösterdiği belirlenmiştir (**Çizelge 4.4-4.8**).

Origanum uçucu yağı test edildikleri tüm bakteriyel etmenleri lavanta ve rezene uçucu yağlarına kıyasla daha düşük konsantrasyonlarda (1.0-7.5 µl/ml) antibakteriyel etkinlik göstermiştir (**Çizelge 4.4-4.8**). Origanum uçucu yağına karşı test edilen bakterilerden en duyarlı etmenin *Cmm* olduğu (1.0 µl/ml), bunu sırasıyla *At* ile *Xav* (2.5 µl/ml) ve *Ecc* ve *Pst*'nin (7.5 µl/ml) izlediği belirlenmiştir.

Lavanta uçucu yağı rezene yağına oranla daha etkili olup test edilen bakteriyel etmenlere karşı 5-60 µl/ml konsantrasyonlarda antibakteriyel etkinlik göstermiştir. Lavanta uçucu yağına karşı test edilen bakterilerden en duyarlı etmenin origanum yağındaki durumda olduğu gibi *Cmm*'nin olduğu (5.0 µl/ml), bunu sırasıyla *At* (7.5 µl/ml), *Xav* (15.0 µl/ml), *Ecc* (40.0 µl/ml) ve *Pst* (60.0 µl/ml) nin izlediği belirlenmiştir.

Uçucu yağlar içinde rezene uçucu yağı en düşük etkinlik göstermiştir. Rezene uçucu yağı test edilen bakteriyel etmenlere karşı diğer yağlara oranla 25-120 µl/ml gibi oldukça yüksek konsantrasyonlarda antibakteriyel etkinlik göstermiştir. Rezene uçucu yağına karşı test edilen bakterilerden en duyarlı etmenin diğer yağlardan farklı olarak *Xav*'nin olduğu (25.0 µl/ml), bunu sırasıyla *Cmm* (40.0 µl/ml), *At* (80.0 µl/ml) ve *Ecc* (100.0 µl/ml) izlerken en dayanıklı etmen *Pst*'nin (120.0 µl/ml) olduğu belirlenmiştir (**Çizelge 4.4-4.8**).

Çizelge 4.4. Farklı Bitki Uçucu Yağların Domates Bakteriyel Benek Hastalık Etmeni *P.syringae pv. tomato*'ya Karşı Antibakteriyel Etkinliği^a

Doz (µl/ml)	Yağlar ve % Engelleme		
	Origanum	Lavanta	Rezene
0,1	55,1 eA	33,9 hB	23,6 kC
0,5	65,0 dA	48,6 gB	25,2 jkC
1	67,7 dA	51,1 gB	27,6 jkC
2,5	77,6 cA	57,5 fB	29,9 ijC
5	85,2 bA	66,1 eB	34,9 hiC
7,5	100 aA	67,2 eB	38,1 ghC
10	-	67,8 eB	42,2 fgC
15	-	71,6 deB	43,7 fgC
20	-	74,5 dB	44,9 fC
25	-	82,6 cB	46,9 efC
40	-	93,5 bB	50,7 eC
60	-	100aA	57,1 dB
80	-	-	65,1 cB
100	-	-	83,2 bB
120	-	-	100 aA

^a Antibakteriyel etkinlik mikro sulandırma yöntemi ile belirlenmiştir. Farklı dozlarda uçucu yağ içeren bakteri süspansiyonları 48 saat inkübasyona bırakılmış ve buradan alınan 100 µl süspansiyon yayıldıkları petri kabında 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. Elde edilen değerler 5 farklı petri kutusunda gelişen bakteri kolonilerinin logaritmik değerlerinin ortalaması olup, % engelleme= $(K_k - U_k) / K_k \times 100$ formülü ile hesaplanmıştır. K_k =kontrol deki koloni sayısı; U_k =uygulama sonucunda gelişen koloni sayısını ifade eder. Deneme 2 farklı zamanda tekrar edilmiştir.

Aynı satır içinde yer alan ortalama değerlerin yanındaki benzer küçük harfler veya sütun içerisinde yer alan ortalama değerlerin yanındaki benzer büyük harfler uygulamalar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olmadığını gösterir (Duncan's Multiple Range Test, $P \leq 0.01$).

- = Bu dozda testleme yapılmamıştır.

Çizelge 4.5. Farklı Bitki Uçucu Yağların Domates Gövde Öz Çürüklüğü Etmeni *E. carotovora* subsp. *carotovora* 'ya Karşı Antibakteriyel Etkinliği^a

Doz (µl/ml)	Yağlar ve % Engelleme		
	Origanum	Lavanta	Rezene
0,1	62,1 eA	31,6 iB	10,2 jC
0,5	64,2 eA	48,8 hB	21,1 iC
1	67,3 dA	64,1 gB	24,4 iC
2,5	81,4 cA	68,5 fB	30,5 hC
5	87,4 bA	70,6 efB	32,9 hC
7,5	100 aA	71,6 defB	33,9 hC
10	-	73,2 deB	40,9 ghC
15	-	75,3 cdB	44,6 gC
20	-	78,1 cB	52,8 fC
25	-	87,1 bB	61,6 eC
30	-	94,8 bB	68,3 deC
40	-	100 aA	74,4 cdB
50	-	-	79,2 cB
60	-	-	88,1 bB
80	-	-	91,7 bB
100	-	-	100 aA

^a Antibakteriyel etkinlik mikro sulandırma yöntemi ile belirlenmiştir. Farklı dozlarda uçucu yağ içeren bakteri süspansiyonları 48 saat inkübasyona bırakılmış ve buradan alınan 100 µl süspansiyon yayıldıkları petri kabında 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. Elde edilen değerler 5 farklı petri kutusunda gelişen bakteri kolonilerinin logaritmik değerlerinin ortalaması olup, % engelleme= $(K_k - U_k) / K_k \times 100$ formülü ile hesaplanmıştır. K_k =kontrol deki koloni sayısı; U_k =uygulama sonucunda gelişen koloni sayısını ifade eder. Deneme 2 farklı zamanda tekrar edilmiştir.

Aynı satır içinde yer alan ortalama değerlerin yanındaki benzer küçük harfler veya sütun içerisinde yer alan ortalama değerlerin yanındaki benzer büyük harfler uygulamalar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olmadığını gösterir (Duncan's Multiple Range Test, $P \leq 0.01$).

- = Bu dozda testleme yapılmamıştır.

Çizelge 4.6. Farklı Bitki Uçucu Yağların Domates Bakteriyel Leke Hastalığı Etmeni *X.axanopodis pv.vesicatoria*'ya Karşı Antibakteriyel Etkinliği^a

Doz (µl/ml)	Yağlar ve % Engelleme		
	Origanum	Lavanta	Rezene
0,1	43,2 dA	10,4 gB	3,6 hC
0,5	61,6 cA	21,1 fB	8,4 gC
1	75,9 bA	39,8 eB	14,4 efC
2,5	100 aA	59,8 cB	19,8 eC
5	-	61,6 cB	39,0 dC
7,5	-	69,4 cB	45,8 dC
10	-	83,7 bB	55,8 cC
15	-	100 aA	59,7 cB
20	-	-	71,7 bB
25	-	-	100 aA

^a Antibakteriyel etkinlik mikro sulandırma yöntemi ile belirlenmiştir. Farklı dozlarda uçucu yağ içeren bakteri süspansiyonları 48 saat inkübasyona bırakılmış ve buradan alınan 100 µl süspansiyon yayıldıkları petri kabında 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. Elde edilen değerler 5 farklı petri kutusunda gelişen bakteri kolonilerinin logaritmik değerlerinin ortalaması olup, % engelleme= $(K_k - U_k) / K_k \times 100$ formülü ile hesaplanmıştır. K_k =kontrol deki koloni sayısı; U_k =uygulama sonucunda gelişen koloni sayısını ifade eder. Deneme 2 farklı zamanda tekrar edilmiştir.

Aynı satır içinde yer alan ortalama değerlerin yanındaki benzer küçük harfler veya sütun içerisinde yer alan ortalama değerlerin yanındaki benzer büyük harfler uygulamalar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olmadığını gösterir (Duncan's Multiple Range Test, $P \leq 0.01$).

- = Bu dozda testleme yapılmamıştır.

Çizelge 4.7. Farklı Bitki Uçucu Yağların Domates Bakteriyel Solgunluk Hastalığı Etmeni *C.michiganensis* subsp. *michiganensis*'e Karşı Antibakteriyel Etkinliği^a

Doz (µl/ml)	Yağlar ve % Engelleme		
	Origanum	Lavanta	Rezene
0,1	58,4 dA	35,7 fB	3,6 kC
0,25	70,1 cA	44,7 deB	8,8 jC
0,5	82,6 bA	49,7 dB	15,8 iC
1	100 aA	70,3 cB	19,6 hiC
2,5	-	83,4 bB	22,8 hC
5	-	100 aA	25,3 ghB
7,5	-	-	29,6 fgB
10	-	-	32,9 efB
15	-	-	37,6 deB
20	-	-	42,7 dB
25	-	-	53,8 cB
30	-	-	68,2 bB
40	-	-	100 aA

^a Antibakteriyel etkinlik mikro sulandırma yöntemi ile belirlenmiştir. Farklı dozlarda uçucu yağ içeren bakteri süspansiyonları 48 saat inkübasyona bırakılmış ve buradan alınan 100 µl süspansiyon yayıldıkları petri kabında 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. Elde edilen değerler 5 farklı petri kutusunda gelişen bakteri kolonilerinin logaritmik değerlerinin ortalaması olup, % engelleme= $(K_k - U_k) / K_k \times 100$ formülü ile hesaplanmıştır. K_k =kontrol deki koloni sayısı; U_k =uygulama sonucunda gelişen koloni sayısını ifade eder. Deneme 2 farklı zamanda tekrar edilmiştir.

Aynı satır içinde yer alan ortalama değerlerin yanındaki benzer küçük harfler veya sütun içerisinde yer alan ortalama değerlerin yanındaki benzer büyük harfler uygulamalar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olmadığını gösterir (Duncan's Multiple Range Test, $P \leq 0.01$).

- = Bu dozda testleme yapılmamıştır.

Çizelge 4.8. Farklı Bitki Uçucu Yağların Bakteriyel Ur Hastalığı Etmeni *A.tumefaciens*'e Karşı Antibakteriyel Etkinliği^a

Doz (µl/ml)	Yağlar ve % Engelleme		
	Origanum	Lavanta	Rezene
0,1	52,3 eA	24,7 gB	1,4 mC
0,25	57,5 dA	33,9 fB	6,1 lC
0,5	62,9 cA	49,7 eB	8,1 kC
1	72,9 bA	57,4 dB	11,5 kC
2,5	100 aA	65,7 cB	13,0 kC
5	-	75,4 bB	21,1 jC
7,5	-	100 aA	25,1 jB
10	-	-	32,8 iB
15	-	-	40,3 hB
20	-	-	48,8 gB
25	-	-	56,2 fB
30	-	-	63,3 eB
40	-	-	78,8 dB
50	-	-	88,7 cB
60	-	-	95,7 bcB
80	-	-	100 aB

^a Antibakteriyel etkinlik mikro sulandırma yöntemi ile belirlenmiştir. Farklı dozlarda uçucu yağ içeren bakteri süspansiyonları 48 saat inkübasyona bırakılmış ve buradan alınan 100 µl süspansiyon yayıldıkları petri kabında 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. Elde edilen değerler 5 farklı petri kutusunda gelişen bakteri kolonilerinin logaritmik değerlerinin ortalaması olup, % engelleme= $(K_k - U_k) / K_k \times 100$ formülü ile hesaplanmıştır. K_k =kontrol deki koloni sayısı; U_k =uygulama sonucunda gelişen koloni sayısını ifade eder. Deneme 2 farklı zamanda tekrar edilmiştir.

Aynı satır içinde yer alan ortalama değerlerin yanındaki benzer küçük harfler veya sütun içerisinde yer alan ortalama değerlerin yanındaki benzer büyük harfler uygulamalar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olmadığını gösterir (Duncan's Multiple Range Test, $P \leq 0.01$).

- = Bu dozda testleme yapılmamıştır.

Elde edilen sonuçlara göre gerek agar disk difüzyon gerekse mikro sulandırma yönteminde en etkili bitki uçucu yağının origanum bitkisinden elde edilen yağın olduğu bunu aynı familyaya giren lavanta yağının takip ettiği belirlenmiştir. Benzer şekilde *Lamiaceae* familyasına dahil olan kekik ve origanum yağlarının diğer yağlara oranla daha yüksek antimikrobiyal (antibakteriyel ve antifungal) etkinliğe sahip olduğu yapılan pek çok çalışmada da bildirilmiştir (KNOBLOCH ve ark., 1989; KARAMANOLİ ve ark., 2000; EZZAT, 2001; NAGARAJ ve ark., 2001; BOUZOUITA ve ark., 2003; DAFERERA ve ark., 2003; THAKARE ve ark., 2003; BAYDAR ve ark., 2004; HORVATH ve ark., 2004; NGUEFACK ve ark., 2005; SOYLU ve ark., 2006). Ülkemizde farklı bölgelerden toplanan *O. syriacum*, *L. stoechas* var. *stoechas* ve *F. vulgare* bitkilerine ait bitki uçucu yağların kimyasal kompozisyonun yanı sıra, bazı gıda ve insan patojeni bakteriyel hastalık etmenlerine karşı antimikrobiyal etkinliği birkaç araştırmada çalışılmıştır (DADALIOĞLU ve EVRENDİLEK, 2003; TEPE ve ark., 2004). SOYLU ve ark. (2003), tarafından yapılan önceki çalışmalarda *L. stoechas* var. *stoechas* bitki uçucu yağının antibakteriyel etkinliğini fasulye hale yanıklık etmeni *P.s.pv. phaseolicola* ya karşı antibakteriyel etkinlikte bulunduğu fakat etkinliğin *Lamiaceae* familyasına dahil biberiye (*R. officinalis*), kekik (*T. spicata*) ve origanum (*O. onites*) gibi bitkilerden elde edilen uçucu yağa kıyaslandığında düşük etkiye sahip olduğunu bildirmişlerdir. Patojenler arasında en duyarlı bakteriyel etmenin Gram pozitif etmen *Cmm* olurken, en dayanıklı etmen *Pst* olmuştur. Benzer şekilde gıda ürünlerinde bozulmalara neden olan Gram pozitif bakteriyel etmenlerde de görülmüştür (CHAO ve ark., 2000; DEL CAMPO ve ark., 2000; EZZEDDINE ve ark., 2001; BOUZOUITA ve ark., 2005; GRIERSON ve AFOLAYAN 2005; IACOBELLIS ve ark., 2005; LOPEZ ve ark., 2005; SANTOYO ve ark., 2005). COX ve ark.(2000), çay ağacı (*Melaleuca alternifolia*) yaprağından elde ettikleri uçucu yağların antibakteriyel etkinliğini Gram-negatif (*Escherichia coli*) ve Gram-pozitif (*Staphylococcus aureus*) bakterilerle *Candida albicans*'a karşı test ettikleri çalışmalarda, bitki uçucu yağının antibakteriyel ve antifungal etkinliğinin mikroorganizmaların hücre membran yapısının geçirgenliğini bozarak kimyasal ozmotik dengesini değiştirdiğini, böylece hücre ölümlerine neden olduğunu bildirmişlerdir. SCORTICHINI ve ROSSI (1989), 15 farklı bitki uçucu yağının antibakteriyel etkinliğini armut ateş yanıklık hastalığı etmeni *Erwinia amylovora*'ya karşı *in vitro* koşullarda araştırdıkları çalışmalarında origanum, sarımsak, papatya ve ak kekik uçucu yağının 112.5-900 mg/l konsantrasyonlarda antibakteriyel etkinliğe sahip olduğunu ve uçucu yağların antibakteriyel etkinliğinin streptomycin

sulphate ve gentamycin sulphate isimli antibiyotiklerin etkinliği ile karşılaştırılabilecek düzeyde olduğunu bildirmişlerdir.

Çalışmalardan elde edilen sonuçlara bakıldığında bitki uçucu yağların gerek kimyasal bileşenleri gerekse test edildikleri patojenlere olan antibakteriyel etkinlikleri benzer bitki türleri ile yapılan önceki çalışmalarla elde edilen sonuçlarla kıyaslandığında benzerlik gösterdiği gibi farklılıklarda göstermiştir. JANNSEN ve ark. (1987), ile THOMAS (1989), aynı bitki türüne ait bitki uçucu yağların kimyasal bileşenlerinin bitkinin yetiştiği coğrafik bölgeye, bitkinin toplandığı döneme, bitkinin uçucu yağının çıkarıldığı durumuna (yaş veya kuru) bağlı olarak farklılık gösterebileceğini, benzer şekilde her ne kadar aynı bitki türüne ait uçucu yağ kullanılsada bu yağların antimikrobiyal etkinliğininde kullanılan test tekniğine, kültür besi ortamının yapısına ve gerek kullanılan patojenin türüne gerekse izolata bağlı olarak büyük oranda farklılık görülebileceği bildirmişlerdir. Nitekim rezene uçucu yağının her ne kadar antifungal etkinliğinin bitki patojeni fungal etmenlere karşı oldukça yüksek olduğu bildirilsede (SOYLU ve ark., 2005; SOYLU ve ark., 2006), antibakteriyel etkinliğinin diğer yağlara oranla düşük olduğu belirlenmiştir.

SATISH ve ark. (1999), 30 farklı bitkiden elde ettikleri sulu bitki ekstraktlarının farklı *Xanthomonas campestris* patovarlarına karşı antibakteriyel etkinliklerini araştırdıkları çalışmalarında, 8 bitki ekstraktının önemli düzeyde antibakteriyel etkinlik gösterdiğini belirlemişlerdir. Özellikle *Prosopis juliflora*, *Oxalis corniculata* ve *Lawsonia inermis* isimli bitkilerden elde edilen ekstraktların yüksek düzeyde antibakteriyel etkinlik gösterdiğini belirledikleri çalışmalarında patojenlerin farklı patovarlarının ekstraktlara farklı düzeylerde duyarlılık gösterdiğini bildirmişlerdir.

4.3.2. Bitki Uçucu Yağlarının Ana Bileşenlerinin Antibakteriyel Etkinlikleri

Bitki uçucu yağların etkinliği ortaya konulduktan sonra yağların içerisinde en yüksek oranda bulunan kimyasal bileşenlerin antibakteriyel etkinlikleri araştırılmış, böylece uçucu yağın antibakteriyel potansiyelinden bu bileşiklerin sorumlu olup olmadıkları belirlenmiştir. Çalışmalarda uçucu yağların önemli ana bileşenleri ticari olarak temin edilmiş olup, test edilen patojenlere karşı (i) minimum engelleme yaptıkları konsantrasyonlardaki bulunma oranı (1x), bu oranın (ii) iki (2x) ve (iii) üç (3x) katı dozlarda olmak üzere 3 farklı dozlarda kullanılmıştır. Farklı dozlarda uçucu yağ bileşenlerini içeren bakteri süspansiyonları 26 °C'de 48 saat inkübasyona bırakılmış

ve buradan alınan 100 µl süspansiyon yayıldıkları petri kabında 48 saat tekrar inkübasyona bırakılarak yağların bakterilerin populasyon gelişimi üzerine olan antibakteriyel potansiyelleri belirlenmiştir. Çalışmalarda elde edilen sonuçlar **Çizelge 4.9** da sunulmuştur.

Sonuçlara göre rezene uçucu yağının ana bileşeni olan *trans*-anethol'ün *Cmm*, *At* ve *Ecc*'yi mikro sulandırma yöntemi ile belirlenen minimum engellediği konsantrasyonda bulunduğu oranda (1x) tamamen engellerken, *Xav*'yı minimum engellediği konsantrasyondaki bulunduğu oranın iki katı dozda (2x) engelleyebilmiştir. *Pst* açısından bakıldığında her ne kadar populasyon gelişimi kontroldeki gelişime oranla önemli düzeyde engellenmiş olsa da (%63.1-74.3 oranlarında), kullanılan 3 dozda da tamamen engellenme tespit edilmemiştir. Bu durumda *Cmm*, *At* ve *Ecc* etmenlerine karşı rezene yağındaki antibakteriyel etkinlikten sorumlu kimyasal bileşenin *trans*-anethole olduğu belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre *trans*-anethole tek başına *Xav* ve *Pst* karşı antibakteriyel etkinlikten sorumlu bileşik olmadığını, *trans*-anethole'ün söz konusu *Pst* ve *Xav* etmenlerine karşı antibakteriyel etkinliği rezene uçucu yağında bulunan diğer bileşenlerle girdiği sinerjik etkileşimden kaynaklanabileceğini göstermiştir.

Ana bileşenlerin antibakteriyel etkinliğinin araştırıldığı çalışmalarda lavanta uçucu yağının en önemli bileşeni olarak camphor test edilmiştir. Camphor *Pst*, *Ecc* ve *At* etmenlerinin gelişimini minimum engellediği konsantrasyondaki bulunduğu oranın iki (2x) katı dozunda tamamen engellerken, *Xav* ve *Cmm* etmenlerin gelişimini her ne kadar kontrol uygulamasına oranla önemli düzeyde düşürse de (%45-65 oranlarında) kullanılan 3 dozda da engelleyememiştir. Elde edilen sonuçlara göre camphor tek başına test edildiği tüm patojenlere karşı antibakteriyel etkinlikten sorumlu bileşik olmadığı açıkça tespit edilmiştir. Sonuçlar *trans*-anethole örneğinde olduğu gibi camphor'un lavanta uçucu yağındaki antibakteriyel özelliği yağ içinde bulunan diğer bileşenlerle girdiği sinerjik etkinlikten kaynaklanabileceğini göstermektedir.

Denemelerde en etkili uçucu yağ olarak belirlediğimiz origanum uçucu yağının en önemli bileşeni carvacrol'ün antibakteriyel etkinliğinin belirlendiği çalışmalarda da en etkili ana bileşen olduğu tespit edilmiştir. Carvacrol tek başına kullanıldığında *Pst*, *At* ve *Ecc* etmenlerinin populasyon gelişimini, mikro sulandırma yöntemi ile belirlenen minimum engellediği konsantrasyonda bulunduğu oranda (1x) tamamen engellerken, *Xav* ve *Cmm*'i minimum engellediği konsantrasyondaki bulunduğu oranın iki katı dozda (2x) engelleyebilmiştir.

Çizelge 4.9. Bitki Uçucu Yağ Ana Bileşenlerinin Farklı Konsantrasyonlarının Domateste Sorun Olan Bakteriyel Hastalık Etmenlerine Karşı Antibakteriyel Etkinliği^a

Ana bileşenler ve dozlar*	Bakteriyel etmenler ve %engellenme				
	<i>Pst</i>	<i>Ecc</i>	<i>Xav</i>	<i>At</i>	<i>Cmm</i>
Anethole 1x	63,1 b	100 a	69,3 d	100 a	100 a
Anethole 2x	67,9 bc	100 a	100 a	100 a	100 a
Anethole 3x	74,3 c	100 a	100 a	100 a	100 a
Camphor 1x	75,3 c	83,4 b	45,1 b	68,5 b	50,2 b
Camphor 2x	100 a	100 a	56,9 c	100 a	61,6 c
Camphor 3x	100 a	0 a	65,5 d	100 a	67,5 d
Carvacrol 1x	100 a	100 a	65,1 d	100 a	61,1 c
Carvacrol 2x	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a
Carvacrol 3x	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a

* Dozlar ana bileşenin test edildiği bakteriye karşı minimum engellemeyi sağlayan dozdaki oran(1x), iki (2x) ve 3 katı (3x) olmak üzere kullanılmıştır.

^a Antibakteriyel etkinlik mikro sulandırma yöntemi ile belirlenmiştir. Farklı dozlarda uçucu yağ bileşenleri içeren bakteri süspansiyonları 48 saat inkübasyona bırakılmış ve buradan alınan 100 µl süspansiyon yayıldıkları petri kabında 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. Elde edilen değerler 5 farklı petri kutusunda gelişen bakteri kolonilerinin logaritmik değerlerinin ortalaması olup, % engelleme= $(K_k - U_k) / K_k \times 100$ formülü ile hesaplanmıştır. K_k =kontrol deki koloni sayısı; U_k =uygulama sonucunda gelişen koloni sayısını ifade eder. Deneme 2 farklı zamanda tekrar edilmiştir.

Aynı sütun içerisinde yer alan ortalama değerlerin yanındaki benzer küçük harfler uygulamalar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olmadığını gösterir (Duncan's Multiple Range Test, $P \leq 0.01$).

Özetle çalışmalarda kullanılan 3 farklı uçucu yağında bulunan ana bileşenler içerisinde en yüksek bulunma oranına sahip 3 farklı ana bileşikler arasında en yüksek antibakteriyel etkinlik, origanum uçucu yağının ana bileşeni olan carvacrol tarafından gösterilmiştir. Her ne kadar test edildiği bakteri türüne göre değişiklik gösterse de carvacrol'ü sırasıyla *trans*-anethole ve camphor izlemiştir.

Çalışmalarda kullanılan bitki uçucu yağların kimyasal bileşenleri ile antibakteriyel potansiyellerinin belirlendiği araştırma sonuçlarına bakıldığında söz konusu bitki uçucu yağların antibakteriyel potansiyellerinin içerilerinde yüksek düzeyde bulunan carvacrol, camphor ve *trans*-anethole gibi phenoliklerle, limonene ve γ -terpinene gibi terpen'lerden kaynaklandığı düşünülmektedir. Söz konusu ana bileşiklerden olan carvacrol (SIVROPOULOU ve ark., 1996; ALIGIANNIS ve ark., 2001; LAMBERT ve ark., 2001; SALGUEIRO ve ark., 2002; EDRIS ve FARRAG, 2003; AZAZ ve ark., 2005; CHAMI ve ark., 2005; FALEIRO ve ark., 2005), camphor (GARG ve SIDDIQUE, 1992; KHAN ve SAEED, 2002; JUTEAU ve ark., 2002; RASOOLI ve ark., 2003; BOUZOUITA ve ark., 2005) ve *trans*-anethole (PARK ve ark., 2004)'ün farklı bakteriyel ve fungal hastalık etmenlerine karşı antimikrobiyal etkinlikleri önceden yapılan çalışmalarla ortaya konulmuştur.

NOSTRO ve ark.(2004),origanum yağının yanı sıra ana bileşenlerinden carvacrol ve thymol'ün antibiyotiğe dayanıklı birçok insan patojeni bakteriyel etmene karşı oldukça yüksek düzeyde antibakteriyel etkinliğe sahip olduğunu bildirmişlerdir. Bitki uçucu yağ ve ana bileşenlerinin bakteri hücrelerinin morfolojik yapılarında önemli düzeylerde bozulmalara neden oldukları yapılan elektron mikroskobu çalışmaları ile de teyit edilmiştir (BENNIS ve ark., 2003). Uçucu yağların içerisinde ana bileşen olarak yer alan (carvacrol, camphor, 1,8-cineole ve *trans*-anethole gibi) kimyasalların bazı patojenlere karşı doğrudan antimikrobiyal etkenlikten sorumlu etken olmadığı, bunların yağ içerisinde daha düşük oranlarda bulunan diğer kimyasal bileşenlerle (γ -terpinene, linalool vb.) sinerjik etkiye girerek test edildikleri mikroorganizmalara karşı etkinlik gösterdikleri yapılan önceki çalışmalarda da bildirilmiştir (HINOUE ve ark., 1989; ZAKARYA ve ark., 1993; SIVROPOULOU ve ark., 1996; CHALCHAT ve ark., 1997; CIMANGA ve ark., 2002; GRIERSON ve AFOLAYAN, 2005; CHA ve ark., 2005; SANTOYO ve ark., 2005).

CIMANGA ve ark. (2002) ile ZAKARYA ve ark. (1993), iki farklı *Eucalyptus* türlerinde ana bileşen olarak yer alan 1,8-cineole ve α -pinene her iki bitki yağında da aynı oranda bulunmasına rağmen, bu yağların test edildiği aynı bakteri türüne karşı önemli düzeyde farklı antibakteriyel etkinlikte bulduklarını bildirmişlerdir.

Araştırmacılar antibakteriyel etkinlikte gözlenen bu farklılığın her iki yağın kimyasal bileşenlerinde tespit edilen fakat düşük oranlarda yer alan farklı kimyasal bileşiklerden kaynaklanmış olabileceğini bildirmişlerdir. HOCINE ve ark. (2003), *Ammoides pusilla* isimli bitkiden elde edilen uçucu yağın ana bileşenlerinden biri olan γ -terpinene'nin test edilen insan patojeni, bakteriyel ve fungal hastalık etmenlerine (*Serratia marcescens*, *Salmonella enteritidis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsilla pneumontae*, *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*, *Pseudomonas syringae* pv. *mosprunorum*, *Aspergillus niger*, *Candida albicans*) karşı tek başına veya sinerjik olarak antimikrobiyal etkiye sahip olduğu bildirilmiştir. Sözkonusu bileşenlerin fitopatojen hastalık etmeni olan *Botrytis cinerea*'ya karşıda tek başına veya sinerjik olarak antimikrobiyal etkiye sahip olduğu bildirilmiştir (WILSON ve ark.,1997). ADAM ve ark.(1998), *Origanum vulgare* ve *Lavandula angustifolia* bitki uçucu yağlarının ana bileşenleri olan carvacrol, linalool, 1,8-cineol, camphor ve α -terpinene bileşenlerinin antifungal etkinliğini araştırdıkları çalışmalarında carvacrol dışında diğer bileşenlerin tek başlarına kullanıldığında oldukça düşük oranda antifungal özellik gösterdiğini bildirmişlerdir.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Yapılan bu çalışma ile Hatay ili florasında yetişen *Lamiaceae* familyasına dahil olan origanum (*Origanum syriacum* L. var. *bevanni*), lavanta (*Lavandula stoechas* L. var. *stoechas*) ve *Apiaceae* familyasına dahil rezene (*Foeniculum vulgare* Mill.) bitkilerinden elde edilen uçucu yağlar, domates patojeni bakteriyel hastalık etmenlerinden *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*, *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *Xanthomonas axanopodis* pv. *vesicatoria* ve *Agrobacterium tumefaciens*'e karşı kimyasal mücadeleye alternatif bir yöntem olarak yararlanabilme olanakları *in vitro* koşullarında araştırılmış ve sonuçta bitkilerden elde edilen uçucu yağların ve bu yağlarda en yüksek düzeyde bulunan ana bileşenlerinin test edildikleri bakterilerin gelişimi üzerine etkinlikleri açıkça ortaya konulmuştur. Origanum uçucu yağı ve ana bileşeni olan carvacrol'un lavanta ve rezene uçucu yağına göre daha düşük konsantrasyonlarda etkinlik gösterdiği belirlenmiştir.

Agar disk difüzyon testi uçucu yağlara karşı en duyarlı bakteriyel etmenin Gram-pozitif bakteri olan *Cmm* nin olduğunu bu bakteriyi sırasıyla *At*, *Xav* ve *Ecc* nin izlediğini, bakteriler arasında test edilen yağlara karşı en dayanıklı türün ise *Pst* olduğu göstermiştir (**Çizelge 4.3**). Benzer şekilde mikro seyreltme yöntemi bu sonuçları desteklemiştir (**Çizelge 4.4-4.8**).

Çalışmalarda kullanılan bitki uçucu yağların kimyasal bileşenleri ile antibakteriyel potansiyellerinin belirlendiği araştırma sonuçlarına bakıldığında söz konusu bitki uçucu yağların antibakteriyel potansiyellerinin içerilerinde yüksek düzeyde bulunan carvacrol, camphor, 1,8-cineole ve *trans*-anethole gibi phenoliklerle, yağlar içerisinde daha düşük oranlarda bulunan γ -terpinene gibi terpen'lerden kaynaklandığı düşünülmektedir. Test edilen 3 farklı ana bileşikler arasında en yüksek antibakteriyel etkinlik, origanum uçucu yağının ana bileşeni olan carvacrol tarafından gösterilmiştir (**Çizelge 4.9**). Her ne kadar test edildiği bakteri türüne göre değişiklik gösterse de carvacrol'ü sırasıyla *trans*-anethole ve camphor izlemiştir. Carvacrol tek başına kullanıldığında *Pst*, *At* ve *Ecc* etmenlerinin populasyon gelişimini, mikro sulandırma yöntemi ile belirlenen minimum engellediği konsantrasyonda bulunduğu oranda (1x) tamamen engellerken, *Xav* ve *Cmm*'i minimum engellediği konsantrasyondaki bulunduğu oranın iki katı dozda (2x) engelleyebilmiştir. Lavanta uçucu yağının ana bileşeni olan camphor, test edildiği bakteriyel etmenlerden hiç birinin gelişimini minimum engellediği konsantrasyondaki bulunduğu oranda (1x) engelleyememiştir. Bu durum camphor'un antibakteriyel

etkinlikten 1. derecede sorumlu bileşen olmadığını göstermektedir. Söz konusu durum *trans-anethole*'ün *Pst* olan etkinliğinde de görülmüştür. Bazı bitki uçucu yağlarının ana bileşenlerinin yağda buldukları orana göre belirlenen konsantrasyonlarda antibakteriyel etkinlik göstermemesinin nedeni yağın içerisinde düşük oranda bulunan diğer bileşenlerin eksikliğinden kaynaklanabilir. Benzer şekilde sonuçlar daha önceden farklı bitki uçucu yağları ile yapılan çalışmalarda da bildirilmiştir

Özetle, denemelerde kullanmış olan bitkilerin test edilen ve çoğunluğu tohum kökenli olan bitki bakteriyel etmenler üzerinde etkili olduğu açıkça görülmektedir. Bu bitkilerden özellikle *Origanum syriacum* uçucu yağının ve bu yağın ana bileşeni olan carvacrol'ün patojenlerin gelişimi üzerine etkileri oldukça ümit vericidir. Bunun yanında *Lavandula stoechas* uçucu yağının patojenler üzerindeki etkinliği de göz ardı edilmemelidir. Bitki uçucu yağların uygulamaya aktarılması için bazı çalışmaların yapılması gerekmektedir. Özellikle tohum kökenli bakteriyel hastalık etmenlerine karşı uygulanan sıcak suya daldırma yönteminde sıcak suyun tohumun çimlenme kapasitesi üzerine olan olumsuz etkinliği, suyun sıcaklığını düşürüp içerisine uçucu yağların eklenmesi ile giderilebileceği düşünülmektedir. Diğer uygulama şekli uçucu yağların suda çözünürlüğünü sağlayıp, damla sulama ile bitkilerin köklerine verilmesi ile toprak kökenli fungal ve bakteriyel hastalık etmenlerine karşı mücadelede kullanılabilir. Benzer şekilde özellikle solarizasyon çalışmalarında toprağa verilmesi ile gerek fitopatojen bakteriyel fungal etmenlere gerekse nematod ve yabancı ot tohumları üzerine olan etkinliği araştırılabilir.

Araştırmamızda kullanılan bitkilere benzer bitkilerin de patojenler üzerinde antimikrobiyal etkinliğinin olabileceği ihtimali üzerinde durulup, antimikrobiyal etkinliği olabilmesi muhtemel diğer bitkilerin araştırılması konusunda daha kapsamlı araştırmalar yapılabilir. Bu bitkilerden elde edilecek uçucu yağ ve ekstraktların doğal dengeye zarar vermemesi nedeniyle yapılacak preparat çalışmaları sonucunda geliştirilen formülasyonların zirai ilaçların yerine kullanılabilmesi kuvvetli ihtimaldir. *In vitro* etkinliğini araştırdığımız bitki uçucu yağlarının yukarıda belirtilen *in vivo* denemeleri yapılarak uçucu yağların tarla ve sera koşullarındaki etkinliklerinin araştırılması bu konuda yapılan çalışmaların geliştirilmesi üzerine ve geliştirilen preparatların hastalıklarla mücadelede kullanılması sonucunda zirai üretime katkıda bulunacağı açıkça görülmektedir. Ülkemizde ve özellikle Hatay ili ve çevresinde bu tür tıbbi bitkilerin doğal olarak yetiştiği dikkate alınacak olursa, çalışmalarımıza benzer konulara yönelik araştırmaların artması muhtemeldir. Artan bilimsel çalışmalara paralel

olarak yöre halkı tarafından doğadan bilinçsizce toplanan bu bitkilerin korunmaya alınması, bunun yanında bu tür antimikrobiyal etkinliği yüksek olan bitkilerin özellikle alternatif kültür bitkisi olarak yetiştiriciliğinin teşvik edilmesi, gelecekte bu konu da yapılacak yeni çalışmalara temel teşkil etmesi açısından önemlidir.

KAYNAKLAR

- ADAM, K., SIVROPOULOU, A., KOKKINI, S., LANARAS, T., and ARSENAKIS, M., 1998. Antifungal activities of *Origanum vulgare subsp. hirsutum*, *Mentha spicata*, *Lavandula angustifolia*, and *Salvia fruticosa* essential oils against human pathogenic fungi. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, 46: 1739-1745.
- ADAMS, R.P., 1995. **Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy**. Carol stream, IL: Allured Publishing.
- AKGÜL, A., and KIVANÇ, M., 1988. Inhibitory effects of selected Turkish spices and oregano components on some common food-borne fungi. **International Journal of Food Microbiology**, 6: 263-268.
- AKTUĞ, Ş. E., and KARAPINAR, M. 1986. Sensitivity of Some Common Food-Poisoning Bacteria to Thyme, Mint and Bay Leaves. **International Journal of Food Microbiology**, 3: 349-354.
- ALICE, D., and RAO, A.R., 1987. Antifungal effects of plant extracts on *Drechslera oryzae* in rice. **International Rice Research Newsletter**, 12:28-33.
- ALIGIANNIS, N., KALPOUTZAKIS, E., MITAKU, S., and CHINOU, I.B., 2001. Composition and antimicrobial activity of the essential oils of two *Origanum* species. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 49 : 4168-4170.
- ALMA, M.H., MAVI, A., YILDIRIM, A., DIGRAK, M., AND HIRATA, T., 2003. Screening chemical composition and *in vitro* antioxidant and antimicrobial activities of the essential oils from *Origanum syriacum* L. growing in Turkey. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, 26: 1725-1729.
- AMADIOHA, A.C., 2000. Controlling rice blast *in vitro* and *in vivo* with extracts of *Azadirachta indica*. **Crop Protection**, 19: 287-290.
- ANONİM, 2003. İlimizin önemli tarımsal ürünleri ve üretim miktarları. **Tarım ve Köyşleri Bakanlığı, Hatay İl Müdürlüğü**.
- ANONYMOUS, 2003. FAO Statistics Series.
- ARRAS, G., and GRELLA, G.E., 1992. Wild thyme *Thymus capitatus* essential oil seasonal changes and antimycotic activity. **Journal of Horticulture Science**, 67: 197-202.
- AYANOĞLU, F., MERT, A., ve KAYA, A., 2000. Hatay florasında yetişen karabaş lavantanın (*Lavandula stoechas* subsp. *stoechas* L) çelikle köklendirilmesi üzerine farklı lokasyonların ve hormon dozlarının etkisi. **Tr. J. of Agriculture and Forestry**, 24: 607-610.
- AYSAN, Y., ve ÇINAR, O., 2002. Tohum kökenli *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*'ya karşı Antagonistlerin Etkisi. **Türkiye X. Biyolojik Mücadele Kongresi**, 4-7 Eylül 2002, Erzurum.
- AZAZ, A.D., KURKCUOĞLU, M., SATIL, F., BASER, K.H.C., and TUMEN, G., 2005. *In vitro* antimicrobial activity and chemical composition of some *Satureja* essential oils. **Flavour and Fragrance Journal**, 20 : 587-591.
- BASIM, E., BASIM, H., 2003. Antibacterial activity of *Rosa damascena* essential oil. **Fitoterapia**, 74 : 394-396.
- BASIM, H., YEĞEN, O., and ZELLER, W., 2000. Antibacterial effect of essential oil of *Thymbra spicata* L. var. *spicata* on some plant pathogenic bacteria. **Journal of Plant Diseases and Protection**, 279: 279-284.
- BAYDAR, H., SAGDIC, O., OZKAN, G., and KARADOĞAN, T., 2004. Antibacterial activity and composition of essential oils from *Origanum*, *Thymbra* and *Satureja* species with commercial importance in Turkey. **Food Control**, 15 : 169-172.

- BENNIS, S., CHAMI, F., CHAMI, N., BOUCHIKHI, T., and REMMAL, A., 2003. Surface alteration of *Saccharomyces cerevisiae* induced by thymol and eugenol. **Letters in Applied Microbiology**, 38: 454-458
- BROWMICK, B.N., and CHAUDHARY, B.K., 1982. Antifungal activity of leaf extracts of medical plants on *Alternaria alternata*. **Indian Botanical Reporter**, 13: 164-165.
- BOUZOUITA, N., KACHOURI, F., HAMDI, M., and CHAABOUNI, M.M., 2003. Antimicrobial activity of essential oils from Tunisian aromatic plants. **Flavour and Fragrance Journal**, 18: 380-383.
- BOUZOUITA, N., KACHOURI, F., HAMDI, M., CHAABOUNI, M.M., BEN AISSA, R., ZGOULLI, S., THONART, R., CARLIER, A., MARLIER, M., and LOGNAY, G.C., 2005. Volatile constituents and antimicrobial activity of *Lavandula stoechas* L. oil from Tunisia. **Journal of Essential Oil Research**, 17: 584-586.
- BOZIN, B., MIMICA-DUKIC, N., SIMIN, N., and ANACKOV, G., 2006. Characterization of the volatile composition of essential oils of some *Lamiaceae* spices and the antimicrobial and antioxidant activities of the entire oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 54: 1822-1828.
- BURT, S., 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. **Int J Food Microbiol**, 94: 223–253.
- CAVANAGH, H.M.A., and WILKINSON, J.N., 2002. Biological activities of lavender essential oil. **Phytotherapy Research**, 16 : 301-308.
- CHA, J.D, JEONG, M.R., JEONG, S.I, MOON, SE., KIM, J.Y., KIL, B.S., and SONG, Y.H., 2005. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Artemisia scoparia* and *A-capillaris*. **Planta Medica**, 71: 186-190.
- CHALCAT, J.C., GARRY, R.P., MENUT, C., LAMATY, G., MALHURET, R., CHOPINEAU, J., 1997. Correlation between chemical composition and antimicrobial activity. VI. Activity of some African essential oil. **Journal of Essential Oil Research**, 9: 67-75.
- CHAMI, N., BENNIS, S., CHAMI, F., ABOUSSEKHRA, A., REMMAL, A., 2005. Study of anticandidal activity of carvacrol and eugenol *in vitro* and *in vivo*. **Oral Microbiology Immunology**, 20:106-111.
- CHAO, S.C., YOUNG, D.G., and OBERG, C.J., 2000. Screening for inhibitory activity of essential oils on selected bacteria, fungi and viruses. **Journal of Essential Oil Research**, 12: 639-649.
- CHORIANOPOULOS, N., EVERGETS, E., MALLOUCHOS, A., KALPOUTZAKIS, E., NYCHAS, G.J., and HAROUTOUNIAN, S.A., 2006. Characterization of the essential oil volatiles of *Satureja thymbra* and *Satureja parnassica*: Influence of harvesting time and antimicrobial activity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 54: 3139-3145.
- CIMANGA, K., KAMBU, K., TONA, L., APERS, S., DE BRUYNE, T., HERMANS, N., TOTTE, J., PIETERS, L., VLIETINCK, A.J., 2002. Correlation between chemical composition and antibacterial activity of essential oils of some aromatic medicinal plants growing in the Democratic Republic of Congo. **Journal of Ethnopharmacology**, 79: 213-220.
- COUNCIL OF EUROPE. 1997. EUROPEAN PHARMACOPOEIA. 3rd edition; Strausbourg, 121-122.
- COX, S.C., MANN, C.M., MARKHAM, J.M., BELL, H.C., GUSTAFSON, J.E., WARMINGTON, J.R., and WYLLIE, S.G., 2000. The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). **Journal of Applied Microbiology**, 88:170-175.

- ÇINAR, O., ve AYSAN, Y., 1995. Domates bakteriyel leke etmeninin (*Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*) canlılığı üzerine toprak solarizasyonunun etkisinin ve biyolojik kontrolde antagonistlerin kullanıma olanaklarının araştırılması. **VII. Türkiye Fitopatoloji Kongresi Bildirileri**, 26-29 Eylül 1995, 423-425.
- DADALIOGLU, I., and EVRENDILEK, G.A., 2004. Chemical compositions and antibacterial effects of essential oils of Turkish oregano (*Origanum minutiflorum*), bay laurel (*Laurus nobilis*), Spanish lavender (*Lavandula stoechas* L.), and fennel (*Foeniculum vulgare*) on common foodborne pathogens. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 52 : 8255-8260.
- DAFERERA, D.J., ZIAGOS, B.N., and POLISSIOU, M.G., 2000. GC-MS analysis of essential oils from Greek aromatic plants and their fungitoxicity on *Penicillium digitatum*. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, 48: 2576-2581.
- DAFERERA, D.J., ZIOGAS, B.N., and POLISSIOU, M.G., 2003. The effectiveness of plant essential oils on the growth of *Botrytis cinerea*, *Fusarium* sp and *Clavibacter michiganensis* subsp *michiganensis*. **Crop Protection**, 22: 39-44.
- DEENA, M.J., SREERANJINI, K., and THOPPIL, J.E., 2002. Antimicrobial screening of essential oils of *Coleus aromaticus* and *Coleus zeylanicus*. **International Journal of Aromatherapy**, 12: 105-107.
- DEL CAMPO, J., AMIOT, M.J., and NGUYEN-THE C., 2000. Antimicrobial effect of rosemary extracts. **Journal of Food Protection**, 63: 1359-1368.
- DHANVANTARI, B.N., and DRIKS, V.A., 1987. Bacterial stem rot of greenhouse tomato: Etiology, spatial distribution, and the effect of high humidity. **Phytopathology**, 77:1457-1461.
- DIXON, G.R., 1984. **Vegetable Crop Disease**. Macmillan, London.
- DUDAI, N., PUTIEVSKY, E., RAVID, U., PALEVITCH, D., and HALEVY, A.H., 1992. Monoterpene content in *Origanum syriacum* as effected by environmental conditions and flowering. **Physiol Plant**, 84:453-459.
- EDRIS, A.E., and FARRAG, E.S., 2003 Antifungal activity of peppermint and sweet basil essential oils and their major aroma constituents on some plant pathogenic fungi from the vapor phase. **Nahrung/ food**, 47: 117-121.
- ERDEMİR, D. A., 2001. **Şifalı Bitkiler “Doğal İlaçlarla Geleneksel Tedaviler” (İstanbul ve Bursa Aktarlarından Örnekler)**. Alfa Basım Yayım Dağıtım Ltd. Şti., İstanbul.
- EZZAT, S.M., 2001. In vitro inhibition of *Candida albicans* growth by plant extracts and essential oils. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, 17: 757-759.
- EZZEDDINE, N.B., ABDELKEFI, M.M., BEN AISSA, R., and CHAABOUNI, M.M., 2001. Antibacterial screening of *Origanum majorana* L. oil from Tunisia. **Journal of Essential Oil Research**, 13: 295-297.
- FALEIRO, L., MIGUEL, G., GOMES, S., COSTA, L., VENANCIO, F., TEIXEIRA, A., FIGUEIREDO, A.C., BARROSO, J.G., and PEDRO, L.G., 2005. Antibacterial and antioxidant activities of essential oils isolated from *Thymbra capitata* L. (Cav.) and *Origanum vulgare* L. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 53: 8162-8168.
- GARG, S. C., and SIDDIQUI, N., 1992. Antifungal activity of some essential oil isolates. **Pharmazie**, 47:467-468.
- GLEASON M.L., GITAITIS R.D., and RICKER M.K., 1993. Recent progress in understanding and controlling bacterial canker of tomato in eastern North America. **Plant Disease**, 77: 1069-1076.

- GOREN, A. C., TOPCU, G., BILSEL, G., BILSEL, M., AYDOGMUS, Z., and PEZZUTO, J.M., 2002. The chemical constituents and biological activity of essential oil of *Lavandula stoechas ssp stoechas*. **Zeitschrift Fur Naturforschung C-A Journal of Biosciences**, 57: 797-800.
- GRIERSON, D.S., and AFOLAYAN, A.J., 2005. Antibacterial activity of the extracts and the essential oil from the shoots of *Salvia namaensis* Schinz. **South African Journal of Science**, 101: 507-509.
- HAMMER, K.A., CARSON, C.F., and RILEY, T.V., 1999. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. **Journal of Applied Microbiology**, 86: 985-990.
- HINO, J.B., HARVALA, C.E., HINO, E.B., 1989. Antimicrobial activity of 32 common constituents of essential oils. **Pharmazie**, 44: 302-303.
- HOCINE, L., ZERROUG, M.M., SAHLI, F., CHAKER, A.N., VALENTINI, G., FERRETTI, G., GRANDE, M., and ANAYA, J., 2003. Composition and antimicrobial activity of *Ammoides pusilla* (Brot) Breistr. Essential oil. **Journal of Essential Oil Research**, 15: 135-138.
- HORVATH, G., SZABO, LG., LEMBERKOVICS, E., BOTZ, L., and KOCSIS, B., 2004. Characterization and TLC-bioautographic detection of essential oils from some *Thymus* Taxa. Determination of the activity of the oils and their components against plant pathogenic bacteria. **Jpc-Journal of Planar Chromatography-Modern TLC**, 17 : 300-304.
- IACOBELLIS, N.S., LO CANTORE, P., CAPASSO, F., and SENATORE, F., 2005. Antibacterial activity of *Cuminum cyminum* L. and *Carum carvi* L. essential oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 53: 57-61
- ISMAN, B.M., 2000. Plant essential oils for pest and disease management. **Crop Protection**, 19: 603-608.
- JANSSEN, A.M., SCHEFFER, J.J.C., SVENDSEN, A., 1987. Antimicrobial activity of essential oils: a 1976-1986 literature review. Aspects of the test methods. **Planta Med**, 5: 395-397.
- JONES, J.B., JONES, J.P., STALL, R.E., ZITTER, T.A., 1993. Compendium of Tomato Diseases. APS Pres. 71 sayfa.
- JUTEAU, F., MASOTTI, V., BESSIERE, J.M., DHERBOMEZ, M., and VIANO, J., 2002. Antibacterial and antioxidant activities of *Artemisia annua* essential oil. **Fitoterapia**, 73 : 532-535
- KARACA, İ., ve SAYGILI, H. 1982. Batı Anadolu'nun bazı illerinde domates ve biberlerde görülen bakteriyel hastalıkların oranı, etmenleri, belirtileri ve konulmuş çeşitlerinin duyarlılığı üzerine araştırmalar. **III. Türkiye Fitopatoloji Kongresi Bildirileri** 12-15 Ekim 1982, Adana. 182-192.
- KARAMANOLI, K., VOKOU, D., MENKISSOGLU, U., and CONSTANTINIDOU, H.I., 2000. Bacterial colonization of phyllosphere of mediterranean aromatic plants. **Journal of Chemical Ecology**, 26: 2035-2048.
- KESSMANN, H., STAUB, T., LIGON, J., OOSTENDORP, M., and RYALS, J., 1994. Activation of systemic acquired disease resistance in plants. **European Journal of Plant Pathology**, 100: 359-369.
- KHAN, ZUD, and SAEED, M.A., 2002. Antibacterial potentials of some constituents of *Lavandula stoechas* L. **Pakistan Journal of Botany**, 34: 359-366.
- KIZIL, S., and UYAR, F., 2006. Antimicrobial Activities of Some Thyme (*Thymus*, *Satureja*, *Origanum* and *Thymbra*) Species Against Important Plant Pathogens. **Asian Journal of Chemistry**, 18: 1455-1461.

- KORDALI, S., KOTAN, R., MAVI, A., ÇAKIR, A., ALA, A., and YILDIRIM, A., 2005. Determination of the chemical composition and antioxidant activity of the essential oil of *Artemisia dracunculus* and of the antifungal and antibacterial activities of Turkish *Artemisia absinthium*, *A. dracunculus*, *Artemisia santonicum*, and *Artemisia spicigera* essential oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 53 : 9452-9458.
- KNOBLOCH, K., PAULI, A., IBERI, B., WEIGAND, H., WEIS, N., 1989. Antibacterial properties of essential oils components. **Journal of Essential Oil Research**, 1:119-128.
- LAMBERT, R.J.W., SKANDAMIS, P.N., COOTE, P.J., and NYCHAS, J.E., 2001. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of oregano essential oil, thymol and carvacrol. **Journal of Applied Microbiology**, 91: 453-462.
- LAOUER, H., ZERROUG, M.M., SAHLI, F., CHAKER, A.N., VALENTINI, G., FERRETTI, G., GRANDE, M., and ANAYA, J., 2003. Composition and antimicrobial activity of *Ammoides pusilla* (Brot.) Breistr. essential oil. **Journal of Essential Oil Research**, 15 : 135-138.
- LOCKE, J.C., LAREW, H.G., and WALTER, J.F., 1993. Efficacy of clarified neem seed oil against foliar fungal pathogens and greenhouse whiteflies. **American Chemical Society**, 21: 287-298.
- LOPEZ, P., SANCHEZ, C., BATLLE, R., and NERIN, C., 2005. Solid- and vapor-phase antimicrobial activities of six essential oils: Susceptibility of selected foodborne bacterial and fungal strains. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 53: 6939-6946.
- MAUDSLEY, F., and KERR, K.G., 1999. Microbiological safety of essential oils used in complementary therapies and the activity of these compounds against bacterial and fungal pathogens. **Support Care Cancer**, 7: 100-102.
- MILLER, J. H. 1972. *Experiments in Molecular Genetics*. Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Laboratory.
- MIMICA-DUKIC, N., KUJUNDZIC, S., SOKOVIC, M., and COULADIS, M. 2003. Essential Oil Composition and Antifungal Activity of *Foeniculum vulgare* Mill. Obtained by Different Distillation Conditions. **Phytother. Res.** 17: 368–371.
- MINIJA, J., THOPPIL, J.E., 2002. Studies on essential oil composition and microbicidal activities of two South Indian spices of the Apiaceae. **International Journal of Aromatherapy**, 12: 213-215.
- NAGARAJ, M.S., SRINIVASACHARY, and KHAN, A.N.A., 2001. Studies on the management of *Xanthomonas campestris* pv. *moricola* of mulberry. **Journal of Mycopathological Research**, 39: 87-90.
- NGUEFACK, J., SOMDA, I., MORTENSEN, C.N., and ZOLLO, P.H.A., 2005. Evaluation of five essential oils from aromatic plants of Cameroon for controlling seed-borne bacteria of rice (*Oryza sativa* L.) **Seed Science and Technology**, 33: 397-407.
- NOSTRO, A., BLANCO, A.N., CANNATELLI, M.A., ENEA, V., FLAMINI, G., MORELLI, I., ROCCARO, A.S., ALONZO, V., 2004. Susceptibility of methicillin-resistant *Staphylococci* to oregano essential oil, carvacrol and thymol. **FEMS Microbiology Letters**, 230:191-195.
- OZCAN, M., and ERKMEN, O., 2001. Antimicrobial activity of the essential oils of Turkish plant spices. **Eur. Food Res. Technol.**, 212: 658-660.
- PAPPAS, A.C., 1982. Metalaxyl resistance and control of cucumber downy mildew with oomycetes-fungicides. **Annales de l'Institut Phytopathologique Benaki**, 13: 194-212.

- PARK, J.S., BAEK, H.H., BAI, D.H., O.H T.K., and LEE, C.H., 2004. Antibacterial activity of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) seed essential oil against the growth of *Streptococcus mutans*. **Food Science and Biotechnology**, 13: 581-585.
- PAULITZ, C.P., and BELANGER, R.R., 2001. Biological control in greenhouse. **Annual Review of Phytopathology**, 39: 103-133.
- PRADHANANG, P.M., MOMOL, M.T., OLSON, S.M., and JONES, J.B., 2003. Effects of plant essential oils on *Ralstonia solanacearum* population density and bacterial wilt incidence in tomato. *Plant Disease* 87: 423-427.
- RASOOLI, I., REZAEI, M.B., MOOSAVI, M.L., and JAIMAND, K., 2003. Microbial sensitivity to and chemical properties of the essential oil of *Artemisia annua* L. **Journal of Essential Oil Research**, 15: 59-62.
- RUBERTO, G., BARATTA, M.T., DEANS, S.G., DORMAN, H.J.D., 2000. Antioxidant and antimicrobial activity of *Foeniculum vulgare* and *Crithmum maritimum* essential oils. **Planta Med**, 66: 687-693.
- RYALS, J., UKNES, S., and WARD, E., 1994. Systemic acquired resistance. **Plant Physiology**, 104: 1109-1112.
- SAHIN, F., USLU, H., KOTAN, R., and DONMEZ, M.F., 2002. Bacterial canker, caused by *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, on tomatoes in eastern Anatolia region of Turkey. **Plant Pathology**, 51: 399-399.
- SALGUEIRO, L.R., CAVALEIRO, C., GONÇALVES, M.J., PROENÇA DA CUNHA, A., 2002. Antimicrobial Activity and Chemical Composition of the Essential Oil of *Lippia graveolens* from Guatemala. **Planta Med**, 69: 80-83.
- SANTOYO, S., CAVERO, S., JAIME, L., IBANEZ, E., SENORANS, F.J., and REGLERO, G., 2005. Chemical composition and antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil obtained via supercritical fluid extraction. **Journal of Food Protection**, 68: 790-795.
- SARTORATTO, A., MACHADO, A.L.M., DELARMELENA, C., FIGUEIRA, G.M., DUARTE, M.C.T., and REHDER, V.L.G., 2004. Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, 35: 275-280.
- SATISH, S., RAVEESHA, K.A., JANARDHANA, G.R., 1999. Antibacterial activity of plant extracts on phytopathogenic *Xanthomonas campestris* pathovars. **Letters in Applied Microbiology**, 28: 145-147.
- SCORTICHINI, M., and ROSSI, M.P., 1989. *In vitro* activity of some essential oils toward *Erwinia amylovora* (Burriel) Winslow et al. **Acta Phytopathologica Et Entomologica Hungarica**, 24: 423-431.
- SIVROPOULOU, A., PAPANIKOLAOU, E., NIKOLAOU, C., KOKKINI, S., LANARAS, T., and ARSENAKIS, M., 1996. Antimicrobial and cytotoxic activities of *Origanum* essential oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 44 : 1202-1205.
- SKOULA, M., ABIDI, C., and KOKKAKOU, E., 1996. Essential oil variation of *Lavandula stoechas* L. ssp. *stoechas* growing wild in Crete (Greece). **Biochemical Systematics and Ecology**, 24: 255-260.
- SMITH, I.M., DUNEZ, J., LELLIOTT, R.A., PHILLIPS, P.H., ARCHER, S.A., 1988. European handbook of plant disease. **Blackwell Scientific Publications, Oxford**, 583 pp.
- SOYLU, S., SOYLU, E.M., BOZKURT, A., and KAYA, A.D., 2003. Antibacterial activities of essential oils from oregano, thyme, rosemary and lavender plants against *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola*, the causal agent of halo blight of bean. **Ovidius University Annals of Medical Science and Pharmacy**, 1: 40-44.

- SOYLU, E.M., TOK, F.M., SOYLU, S., KAYA, A.D., and EVRENDILEK, G.A., 2005. Antifungal Activities of the Essential Oils On Post-Harvest Disease Agent *Penicillium digitatum*. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, 8: 25-29.
- SOYLU, E.M., SOYLU, S., and KURT, S., 2006. Antimicrobial activities of the essential oils of various plants against tomato late blight disease agent *Phytophthora infestans*. **Mycopathologia**, 161:119-128.
- TAMPIERI, M.P., GALUPPI, R., MACCHIONI, F., CARELLE, M.S., FALCIONI, L., CIONI, L.P. & MORELLI, I., 2004. The inhibition of *Candida albicans* by selected essential oils and their major components. **Mycopathologia**, 159:1-7.
- TEPE, B., DAFERERA, D., SOKMEN, M., POLISSIOU, M., and SOKMEN, A., 2004. The in vitro antioxidant and antimicrobial activities of the essential oil and various extracts of *Origanum syriacum* L. var. *bevanii*. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 84 : 1389-1396.
- THAKARE, A.R., WANKHADE, S.G., SOMANI, R.B., and RAUT, B.T., 2003. Growth inhibition in *Rhizoctonia bataticola* and *Xanthomonas axonopodis* pv. *malvaceum* by herbal oils. **Journal of Spices and Aromatic Crops**, 12: 83-85.
- THOMAS, O.O., 1989. Re-examination of the antimicrobial activities of *Xylopiya aethiopica*, *Carica papaya*, *Ocimum gratissimum* and *Jathropha curcas*. **Fitoterapia**, 60:147-155.
- THOMPSON, D.P., 1986. Effect of essential oils on spore germination of Rhizopus, Mucor and Aspergillus species. **Mycologia**, 78: 482-485.
- THOPPIL, J.E., MINIJA, J., TAJO, A., and DEENA, M.J., 2000. Microbicidal potential of the essential oil of *Ocimum adscendens*. **Journal of Medicinal and Aromatic Plant Sciences**, 22: 256-257
- TUNC, I., BERGER, B.M., ERLER, F., DAGLI, F., 2000. Ovicidal activity of essential oils from five plants against two stored-product insects. **Journal of Stored Products Research**, 36: 161-168.
- TUMEN, G., and BASER, K.H.C., 1993. The essential oil of *Origanum syriacum* L. var. *bevanii* (Holmes) Ietswaart. **J Essent Oil Res**, 5: 315–316.
- TURKUSAY, H., and ONOGUR, E., 1998. Bazı bitki ekstraktların *in vitro* antifungal etkileri üzerine araştırmalar. **Tr. J. of Agriculture and Forestry**, 22: 267-271.
- USTUN, N., and SAYGILI, H., 2001. Pith necrosis on greenhouse tomatoes in Aegean region of Turkey. **Proceeding 11th Congress of the Sociedade Portuguesa de Fitopatologica**, University of Evora (Portugal), 17-20 September, 70-73.
- WELLER, S.A., and O'NEILL, T.M., 2006. Crown gall in organically grown UK tomato caused by tumorigenic strains of *Agrobacterium radiobacter*. **Plant Pathology**, 55: 571-571.
- WILLETTS, J.M. and WONG, J.A.L., 1980. The biology of *Sclerotinia sclerotiorum*, *S. trifoliorum* and *S. minor* with emphasis on specific nomenclature. **Botanical Review**, 46: 102-165.
- WILSON, C.L., SOLAR, J.L., EL GHAOUTH, A., and WISNIEWSKI, M.E., 1997. Rapid Evaluation of Plant Extracts and Essential Oils for Antifungal Activity Against *Botrytis cinerea*. **Plant Disease**, 81: 204-210.
- YEĞEN, O., BERGER, B., and HEITEFUSS, R., 1992. Investigations on the fungitoxicity of extracts of six selected plants from Turkey against phytopathogenic fungi. **Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz**, 99:349-359.
- YILDIZ, N., AYSAN, Y., and ÇINAR, Ö., 2001. Domates gövde nekrozu etmenleri *Pseudomonas viridiflava*, *Erwinia chrysanthemi*, ve *E. carotovora* subsp. *carotovora* üzerine bazı bitki ekstrakt ve eterik yağları ile kompost ekstraktlarının etkileri. **Türkiye IX. Fitopatoloji Kongresi, Bildirileri**, Tekirdağ, 63-72.

ZAKARYA, D., FKIH-TETOUANI, S., HAJJI, F.,1993. Chemical composition-antimicrobial activity relationship of Eucalyptus essential oils. **Plants Medicinales et Phytoterapie**, 26: 331-339.

ÖZGEÇMİŞ

1975 yılında Samandağı'nda doğdum. İlk, orta ve lise eğitimimi aynı ilçede tamamladıktan sonra Mustafa Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü'nü kazandım. Bölümden 2001 yılında mezun oldum. 2003 yılında M.K.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalında Yüksek Lisans öğrenimime başladım.

EK-1**Nutrient (NA) Agar (Merck, Darmstadt, Germany. Katalog No:105450)**

Protease pepton	20 g/l
Agar	15 g/l

King's Medium B (KB) Agar (Merck, Darmstadt, Germany. Katalog No:110989)

Protease pepton	20 g/l
K ₂ HPO ₄ 3H ₂ O	2.5 g/l
MgSO ₄ 7H ₂ O	6 g/l
Glyserol	10 ml/l
Agar	15 g/l

Luria Bertani (LB) Broth (Merck, Darmstadt, Germany. Katalog No:110285)

Tryptone	10g/l
Yeast Extract	5g/l
NaCl	5g/l
Glucose	1g/l